

Moisés Yoshifumi Komatsu

**Relação do Color Doppler e Power
Doppler com a Densidade Vascular do
Tumor corada com o anticorpo CD34 no
Câncer de Mama**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia, Área de Concentração em Ginecologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. José Ricardo P. Rodrigues

***Botucatu
2004***

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Komatsu, Moisés Yoshifumi.

Relação do Color Doppler e Power Doppler com densidade micro vascular
intra tumoral corada com o anticorpo CD34 no câncer de mama / Moisés
Yoshifumi Komatsu. – 2004.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Medicina de Botucatu, 2004.

Orientador: José Ricardo P. Rodrigues

Assunto CAPES: 40101150

1. Mamas - Imagem ultra-sônica 2. Mamas - Câncer

CDD 616.994490757

Palavras-chave: Câncer de mama; Color Doppler; Densidade vascular do
tumor; Power Doppler; Prognóstico



Dedicatória

*A minha esposa, Renata Taeko Oeiras
Komatsu, por sua compreensão, apoio, dedicação e
amor que são dispensadas a nossa família.*

*A minha amada filha, Rebeca Ayumi Komatsu,
que cresça feliz em um mundo melhor.
Da mesma forma que tornou para mim o mundo
melhor e mais feliz
com sua vinda.*

*A minha irmã, Catarina Yuki Komatsu
Todaka, pelo carinho e pela compreensão de todos
os momentos que compartilhamos. E que sua luta
seja igualmente vitoriosa.*

*Aos meus pais, Suzeo e Tokiko Komatsu,
Por toda luta diária, os ensinamentos que são
os pilares que fundamentam a minha vida,
amor, carinho, dedicação, apoio e o valor da
vida.*



Homenagens

*Ao grande Mestre, Professor Doutor. José
Ricardo Paciência Rodrigues.*

*Um exemplo de que é possível ser sábio,
ilustre, admirado por seus semelhantes e
discípulos e ao mesmo tempo humilde, bondoso,
generoso e, sobretudo, humano.*

Muito obrigado.

*A o amigo, Professor Doutor. Gilberto Uemura.
Por seu inestimável apoio no início desta jornada, e
seu exemplo de luta e competência.*

*As amigas Terezinha Vendramini Mariano e Tereza
Nagamatsu, e ao amigo Professor Dr. José Costa de
Andrade pelo apoio imprescindível e valioso, sem o qual esta
jornada não teria início.*



Agradecimientos

A todas as pacientes que colaboraram e participaram deste trabalho, e que Deus as acompanhem em suas lutas.

Aos Professores do Programa de Pós Graduação em Ginecologia e Obstetrícia, pelos ensinamentos transmitidos.

Ao querido Wagner Jou Hisaba, por todo apoio e ajuda na realização deste trabalho, assim como pela sua valorosa amizade.

A senhora Marilda M. B. Rodrigues pela paciência e generosidade, dispensados a mim durante a realização do trabalho.

A Regina Célia Spadin e ao Nathanael Pinheiro Salles, pelo apoio e orientações nos momentos de apreensão e glória que surgiram no transcorrer desta jornada.

As senhoritas Cátia Aparecida Cavicchio e Adriana Santos Silva, pela atenção e pela disposição que sempre mostraram para a realização desta obra.

As secretárias Amanda de Oliveira de Camargo, Arlete Cóstola, Edna Alves Pacheco, Eliana Garcia, Luciana Borges Rodrigues, Mariza Abrantes da Silva e Zulmira Valeriano Ferreira, pela competência e apoio dispensados que tornam possível o meu dia a dia profissional.

Aos Doutores Edgard Haruo Hotta, Eulália Oliveira Moriyama, Lucinei Adriano Baeta Carrera e Edílson da Costa Ogeda pelo seu valioso apoio, colaboração e compreensão na realização deste trabalho.

Aos colegas Doutores Elise Nakabayashi, Fernando Caivano, Fred Akiyama, Ivete Yamashiro, Francisca Lacerda, Gabriel Pinto, Hugo Yoshino, Hélio Yoshino, Helizabeth Salomão e Soraia de Carvalho, pelo apoio, paciência e compreensão durante o compartilhamento da luta diária.

Aos Doutores Flávio Jacob Mendes Leal, Luis Sérgio Rozenkewit e Margareth Ruthes, do setor de Radiologia do Hospital Santa Marcelina de Itaquaquecetuba, pela valiosa colaboração a realização deste trabalho.

A Doutora Elci Barreto, pela sua assessoria e colaboração nas questões relacionadas à Anatomia Patológica deste trabalho.

Ao Professor Fábio Tadeu Montesano, pela assessoria, ensinamentos e competência na organização dos dados estatísticos deste trabalho.

A Adnice Ruiz Pedro pela grande competência e toque artístico introduzidos neste trabalho.

A tia Gracinda Bentes Oeiras, pela ajuda, amor e carinho dedicados à minha família.

Aos Doutores Jair de Oliveira, Reinaldo Augusto Machado, Reinaldo Augusto Machado Júnior, Amélia Frade Said, Cláudio Joaquim Leite Boulhosa, Maria Isabel S. J. S. J. Bandeira, Arnaldo Bagdade, Lúcio José Lourenço e Lourenço, Luis Antonio Cabral Mattioni Mario, Helena Aparecida Junqueira pela formação como especialista em Ginecologia e Obstetrícia, no Hospital da Real e Benemérita Sociedade Portuguesa de Beneficência de São Paulo.

Aos Professores Doutores Ronaldo Lúcio Rangel Costa, Edison Mantovani Barbosa, Nassif Alexandre Galleb Júnior, Amadeu José Pinto, Elza Mieko Fukazawa, José Costa de Andrade, Adalgir D'Alessandro, pela formação como especialista em Mastologia e Oncologia Ginecológica no Instituto Brasileiro de Controle do Câncer – IBCC.

A todos os funcionários, colegas, enfermeiras dos Hospitais Santa Marcelina de Itaquaquecetuba, Carlos Chagas de Guarulhos e São Camilo do Ipiranga que diretamente ou indiretamente colaboraram com na realização deste trabalho.

A Janne Yukiko Oeiras, pela colaboração e assessoria informática deste trabalho.

Aos amigos e compadres Antonio José Pereira e Sílvia Vasconcelos Pereira, pelo acolhimento amigo e carinhoso nos momentos de necessidades.

A senhora Beatriz Grigorian, pelos seus conselhos, amizade, apoio e competência.

Ao mestre Professor Doutor Laurival Antonio De Luca, por sua maestria em nos transmitir durante o Programa de Pós-Graduação valiosos conhecimentos.

As bibliotecárias, senhoras Enilze de Souza Moreira Volpato, Aparecida Regina Denadai da Silva, Selma Maria de Jesus. Pelas valiosas correções e orientações na bibliografia deste estudo.

E finalmente, minha profunda gratidão, aos amigos, colegas e ilustríssimos colaboradores sem o qual este trabalho não teria sido realizado. Por toda a sua dedicação e competência aos Doutores José Celestino de Araújo Júnior, Marco Aurélio Alves Amaro e Moacir Rigueiro Pesatti. Muitíssimo Obrigado.



Επίγραφε

*O que prevemos raramente ocorre;
o que menos esperamos geralmente acontece.*

Benjamin Disraeli.



Sumário

LISTA DE FIGURAS	18
LISTA DE TABELAS	21
LISTA DE ABREVIATURAS	23
RESUMO	25
SUMMARY	30
1. INTRODUÇÃO	34
1.1. Os recursos Color Doppler (CD) e Power Doppler (PW)	42
1.2. Relação do Color Doppler e Power – Doppler com características prognósticas do tumor	48
1.3. Análise da vascularização do tumor com uso do Color Doppler e Power Doppler	50
1.4. Angiogênese	52
1.5. Correlação entre o Color Doppler, Power Doppler e a análise imunohistoquímica da Densidade Vascular do Tumor (DVT)	58
2. OBJETIVO	60
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	62
3.1. Pacientes	63
3.2. Análise ultra – sonográfica	64
3.3. Análise anatomopatológica	66
3.4. Exame de imunohistoquímica	67
3.4.1. Procedimento técnico	68
3.5. Análise estatística	71
4. RESULTADOS	72
4.1. Idade	73
4.2. Relação entre a vascularização ao Color Doppler e Power Doppler com a idade e o tamanho do tumor ao ultra-som ...	73
4.3. Relação entre os tumores sem vascularização ao ultra-som e o tamanho do tumor	75
4.4. Relação entre os tumores vascularizados ao ultra-som e o tamanho do tumor.....	76
4.5. Concordância entre o tamanho ultra-sonográfico do tumor e tamanho do tumor no exame anatomopatológico.....	77
4.6. Determinação do Vmax, Índice de Resistividade, I.P, através do Color Doppler	80

4.7. Relação da Velocidade Máxima do Pico Sistólico (Vmax), Índice de Resistividade (I.R) e Índice de Pulsatilidade (I.P) com a Densidade Vascular do Tumor (DVT).....	81
4.8. Vascularização visível e determinação das classes pelo Power Doppler.....	85
4.9. Relação entre a idade das pacientes e a vascularização observada ao Power Doppler e as respectivas classes.....	88
4.10. Relação entre o tamanho do tumor e a vascularização ao Power Doppler.....	90
4.11. Relação entre a Densidade Vascular do Tumor e a vascularização observada no Power Doppler.....	92
4.12. Relação entre número de vasos observados ao Power Doppler e a Densidade Vascular do Tumor.....	95
4.13. Determinação da densidade vascular do tumor pela imunohistoquímica com o anticorpo cd 34.....	96
5. DISCUSSÃO	98
5.1. Discussão da casuística e métodos	99
5.2. Discussão dos resultados	105
5.2.1. Vascularização ao Color Doppler e Power Doppler com o tamanho do tumor	105
5.2.2. Vascularização vista ao Power Doppler e a idade ...	106
5.2.3. Medida do tumor pela ultra-sonografia em comparação com a aferição pela anatomia patológica	107
5.2.4. Parâmetros hemodinâmicos medidos pelo Color Doppler e Densidade Vascular do Tumor	108
5.2.4.1. Velocidade Máxima do Pico Sistólico	108
5.2.4.2. Índice de Resistividade	109
5.2.4.3. Índice de Pulsatilidade	110
5.2.5. Vascularização ao Power Doppler e Densidade Vascular do Tumor	111
5.2.6. Relação entre o número de vasos observados ao Power Doppler e a anatomia patológica	112
6. CONCLUSÕES	114
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	116
8. ANEXO	130



Lista de Figuras

FIGURA 1-	Representação da variação de amplitude na unidade de tempo (princípio da geração de imagem no Power Doppler).....	45
FIGURA 2-	Representação do mecanismo de neo angiogênese.	54
FIGURA 3-	Distribuição das pacientes quanto ao tamanho do tumor avaliado pela ultra-sonografia e pelo exame anatomopatológico.....	78
FIGURA 4-	Gráfico de Bland-Altman para comparar as medidas do tumor obtidas pela ultra-sonografia e pelo exame anatomopatológico.....	79
FIGURA 5-	Vaso detectado e selecionado através do Color Doppler (seta amarela), utilizando o aparelho ATL HDI 1500, imagem em modo Duplo. Notar o traçado feito manualmente (em vermelho) sobre o espectro e o calculo automático da V max.....	80
FIGURA 6-	Imagem em modo duplo: a esquerda demonstra o tumor e um vaso selecionado na periferia (em vermelho), e a direita o espectro sobre o qual há um traçado manual (em vermelho) para a interpretação automática dos parâmetros hemodinâmicos do Color Doppler.....	80
FIGURA 7-	Relação da Velocidade Máxima no Pico Sistólico (Vmax) nos Grupos A,B,C da Densidade Vascular do Tumor (DVT).....	82
FIGURA 8-	Relação do Índice de Resistividade (I. R) nos grupos A, B, C da Densidade Vascular do Tumor (DVT).....	83
FIGURA 9-	Relação do Índice de Pulsatilidade (I. P) nos Grupos A,B,C da Densidade Vascular do Tumor (DVT).....	84
FIGURA 10-	Imagem de tumor de mama, obtido com transdutor linear multifrequencial de 5 a 10 Mhz, com margens irregulares e sem vascularização (classe 0).....	86

FIGURA 11-	Imagem de tumor de mama, obtido com transdutor linear multifrequencial de 5-10 Mhz, com margem irregular e com um ponto de vascularização (classe I).....	86
FIGURA 12-	Imagem de tumor, obtido com transdutor linear multifrequencial de 5-10 Mhz, com margem irregular e com uma área colorida (classe II).....	87
FIGURA 13-	Imagem do tumor, obtida com transdutor multifrequencial de 5-10 Mhz, com margem irregular e com várias áreas coloridas (classe III).....	87
FIGURA 14-	Distribuição das pacientes quanto à idade e vascularização observada ao Power Doppler (PW) nas respectivas classes.....	89
FIGURA 15-	Distribuição quanto o tamanho do tumor mensurado na ultra-sonografia em relação às classes da vascularização ao Power Doppler.....	91
FIGURA 16-	Distribuição da Densidade Vascular do Tumor (DVT) em cada classe do Power Doppler.....	94
FIGURA 17-	Distribuição conjunta do número absoluto de vasos na Densidade Vascular do Tumor (DVT) e no Power Doppler (PW).....	95
FIGURA 18-	Vasos corados por imunohistoquímica utilizando-se o anticorpo CD34. No detalhe do lúmen vascular bem evidente (técnica APTS-400x).....	96
FIGURA 19-	Vasos corados sob imunohistoquímica utilizando-se o anticorpo CD34. Observar em detalhe o lúmen vascular obstruído e os contornos pouco nítidos (técnica APTS-400x).....	97



Lista de Tabelas

TABELA 1-	Resultado da amostra em relação à idade, Tamanho do tumor a Ultra-sonografia (USG) e tamanho do tumor ao exame anatomopatológico (A. P), Parâmetros hemodinâmicos do Color Doppler e a Densidade Vascular do Tumor.....	74
TABELA 2-	Distribuição da amostra de tumores sem vascularização visível ao ultra-som em relação ao tamanho do tumor em milímetros.....	75
TABELA 3-	Distribuição da amostra de tumores com vascularização visível no ultra-som em relação ao tamanho do tumor em milímetros.....	76
TABELA 4-	Tamanho do tumor medido em milímetros pela Ultra-sonografia versus tamanho do tumor ao exame Anatomopatológico.....	77
TABELA 5-	Medidas descritivas de Vmax, I. R, I. P, em comparação com a DVT.....	81
TABELA 6-	Distribuição da amostra quanto a Vascularização vista ao Power Doppler.....	85
TABELA 7-	Relação entre a idade das pacientes e a vascularização observada ao Power Doppler (PW)...	88
TABELA 8-	Medidas descritivas do tamanho do tumor, segundo Classes observadas ao Power Doppler.....	90
TABELA 9-	Médias da Densidade Vascular do Tumor (DVT), em valores absolutos, para cada classe, observadas no Power Doppler.....	92
TABELA 10 -	Distribuição das pacientes quanto às classes do Power Doppler e a classificação por grupos da Densidade Vascular do Tumor (DVT).....	93



Lista de Abreviaturas

A. P	Anatomopatológico
APTS	3 - Aminopropiltrietoxisilano
CD	Color Doppler
DVT	Densidade Vascular do Tumor
Hz	Hertz
I.P	Índice de Pulsatilidade
I.R	Índice de Resistividade
M.Hz	Mega Hertz
PW	Power Doppler
S.U.S	Sistema Unificado de Saúde
Vmax	Velocidade Máxima no Pico Sistólico
4 D	Três Dimensões em tempo real
T.N.M	T -Tamanho do tumor em centímetros, N - Número de linfonodos comprometidos, M - Metástases



Resumo

O aumento progressivo nas ultimas décadas na incidência do câncer de mama é um fato que assola a humanidade, entretanto, as taxas de mortalidade tendem ao decréscimo em virtude da detecção precoce através de métodos de rastreio e não invasivo, e do conhecimento cada vez maior do comportamento biológico do tumor.

A maior adesão aos meios de rastreamento existentes hoje, deve-se não apenas ao medo que o câncer provoca nas mulheres, mas também ao fato dos exames utilizados para este rastreio não serem invasivos.

Infelizmente ainda não existem métodos capazes de dar indícios do comportamento biológico do tumor de forma instantânea sem que haja a necessidade de submeter as pacientes portadoras de tumores malignos da mama a procedimentos cirúrgicos.

Desde o início da ultima década do século XX e atualmente, com o alvorecer do século XXI, tem-se estudado a angiogênese do tumor através da Ultra-sonografia, utilizando-se dos recursos de Color Doppler e Power Doppler.

Neste trabalho realizado no Hospital Santa Marcelina de Itaquaquecetuba em conjunto com a Disciplina de Mastologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – Universidade Estadual Paulista, foram estudadas trinta e cinco pacientes com tumores malignos da mama, onde se compararam os parâmetros hemodinâmicos (Índice de Resistência, Índice de Pulsatilidade e a Velocidade Máxima no Pico Sistólico) através do Color Doppler, e a

análise subjetiva do número de vasos (divididas em quatro classes) por meio do Power Doppler com a Densidade Vascular do Tumor determinada pelo exame anatomopatológico sendo os vasos corados pela técnica imunohistoquímica utilizando o anticorpo CD34.

A divisão por classes obedeceu à metodologia descrita por Sung-Wo et al., 2002; e Sonh et al., 2000. Onde classe 0 é sem vascularização visível, classe I existe um ponto visível, classe II existe uma área visível e classe III existem várias áreas visíveis. Os aparelhos utilizados no estudo ultrassonográfico foram o ATL HDI 1500 e o Toshiba 340 A.

A Densidade Vascular do Tumor obedeceu à classificação proposta por Gunel et al., 2002 onde grupo A tem menos que cinqüenta vasos, grupo B tem entre cinqüenta e setenta e cinco vasos e grupo C tem mais que setenta e cinco vasos no tumor.

Realizou-se uma análise descritiva dos dados, composta por tabelas de contingência, gráficos e medidas-resumo adequadas à natureza e ao nível de mensuração de cada variável tratada.

Para avaliar a associação entre uma variável numérica e outra categórica com dois níveis, empregou-se o teste t de Student para amostras não relacionadas. Se houvesse três ou mais níveis, a técnica estatística utilizada foi à análise de variância com um fator fixo. Na associação entre variáveis numéricas (como a Densidade Vascular do Tumor e o número de vasos à ultra-sonografia) foi calculado o coeficiente de correlação

linear de Pearson. A possibilidade de concordância entre os tamanhos do tumor avaliados pela Ultra-sonografia e pelo exame anatomopatológico foi estudada com o emprego do gráfico de Bland-Altman e pelo cálculo do coeficiente de correlação interclasses (Altman, 1997).

Observou-se a presença de vascularização em vinte e uma pacientes e nas demais (quatorze) estava ausente. O pequeno tamanho do tumor e a idade mais avançada das pacientes se relacionaram mais com a ausência de vascularização visível à ultra-sonografia.

A média da Velocidade Máxima no Pico Sistólico (V_{max}) observada foi maior nas pacientes do grupo C (18,70 cm/s) e de 11,26 e 11,63 cm/s nas do grupo B e A, respectivamente. A média do Índice de Resistividade foi, respectivamente, nos grupos A, B e C de 0,88, 0,81 e 0,78. A média do Índice de Pulsatilidade foi maior no grupo A (2,03) e, praticamente, igual nos grupos B e C (1,67 e 1,66 respectivamente). A média da Velocidade Máxima do Pico Sistólico mostrou tendência de ser diretamente proporcional a Densidade Vascular do Tumor, e a média do Índice de Resistividade e a média do Índice de Pulsatilidade, por outro lado, mostraram tendência a serem inversamente proporcionais a Densidade Vascular do Tumor, embora, sem significância estatística.

A relação dos resultados obtidos pelo Power Doppler com a Densidade Vascular do Tumor não demonstrou relação de proporcionalidade escalonada entre as classes.

Os dados obtidos em nosso trabalho não observaram correlação entre o número de vasos obtidos pela ultra-sonografia com os recursos de Color Doppler e Power Doppler com a Densidade Vascular do Tumor verificada ao exame anatomopatológico; no entanto, quando se compararam, somente, os casos em que a vascularização esteve presente ao Power Doppler com o número absoluto de vasos obtidos no exame anatomopatológico, foi observada moderada correlação entre os dois métodos ($r=0,50$).



Summary

Although a progressive increase in the incidence of breast cancer is a fact that plagues mankind, mortality rates tend to decrease given precocious detection using non-invasive tracking methods and an ever-growing knowledge of tumoral biological behaviour.

The current large adhesion to tracking methods is explained not only by the fear cancer raises in women but also to the use of non-invasive exams.

Unfortunately, there are no methods capable of giving instantaneous indication of tumoral biological behaviour without submitting patients with malignant tumors to surgical procedure.

Since the early nineties and now at the dawn of the 21st Century, the angiogenesis of the tumor is being studied with the help of Color Doppler and Power Doppler ultrasonography.

In this research — carried out at Santa Marcelina Hospital in Itaquaquecetuba in cooperation with the department of Mastology of the Botucatu Medical School, São Paulo State University, thirty-five patients with mammary malignant tumors were studied, with a comparison of hemodynamic parameters (Resistance Index, Pulsatility Index and Maximum Peak Systolic Velocity) using Color Doppler and a subjective analysis of the number of blood vessels (divided into four classes) using Power Doppler with tumoral vascular density given by an anatomopathological exam where vessels are dyed by antibody CD34 imunohistochemical technique.

Class division followed the methodology described by Sung-Wo et al., 2002 and Sonh et al., 2000 where class 0 is no visible vascularization, class I is the existence of a visible point, class II is the existence of a visible area and class III is the existence of several visible area. The devices employed in the ultrasonographic exams were an ATL HDI 1500 and a Toshiba 340 A.

The tumoral vascular density analysis followed the classification propoded by Gunel et al., 2002 where group A shows less than 50 vessels, group B shows between 50 and 75 vessels and group C shows more than 75 vessels in the tumor.

A data descriptive analysis was effected, consisting of contingency tables, graphs and resume-average suitable to the nature and level of measure of each variable addressed.

In order to evaluate the association between one numerical variable and a two level cathegorical one, Student's T-test was used for non related samples. Had there been three or more levels, the statistical technique employed was fixed-factor variance analysis. Pearson linear correlation coefficient was calculated out of the association between numerical variables (like tumoral vascular density and ultrasonography number of vessels).

The possibility of agreement between the sizes of tumors as given by ultrasonography and by an anatomopathological exam was studied with

the help of Bland-Altman graphs and by the computation of interclass correlation coefficients (Altman, 1997).

Vascularization was observed in 21 patients and not observed in the remaining 14 ones. A small tumor size and a patient's advanced age were related to the absence of ultrasonography visible vascularization.

The observed average Maximum Systolic Peak Velocity (Vmax) was largest in group C patients (18.70 cm/s) and 11.26 and 11.63 cm/s in groups B and A, respectively. Resistivity Index average was 0.88, 0.81 and 0.78 for groups A, B and C, respectively. Pulsatility Index average was largest in group A (2.03) and virtually identical in groups B and C (1.67 and 1.66, respectively). Vmax average showed a tendency to be directly proportional do the Tumoral Vascular Density while RI and PI averages were observed to have a tendency to be inversely proportional do the tumoral vascular density, albeit without statistical significance.

Results obtained with Power Doppler showed no class-scaled proportionality relationship to the Tumoral Vascular Density. Data obtained in our work did not show correlation between the number of vessels obtained from Color Doppler and Power Doppler ultrasonography with the Tumoral Vascular Density obtained with anatomopathological examination. However, when only the instances where Power Doppler showed vascularization and the absolute number of vessels obtained from an anatomopathological exams were compared, a moderate correlation ($r = 0.50$) between the two methods was found.



1. Introdução

O câncer de mama é doença de alta incidência, e de grande impacto na saúde pública feminina, com aumento considerável no número de casos novos em diversas nações. Este aumento se faz de maneira desigual em diferentes países; especula-se que tal fato se deva a diversidade com que os fatores ambientais interagem com os genéticos das populações enfocadas (Henderson, 1993; Kemp et al., 2002).

As estimativas sobre a incidência e mortalidade por câncer no Brasil no ano de 2002, apontavam para 36.090 casos novos de neoplasia maligna da mama feminina, com taxas brutas de mortalidade em torno de 10,25/100.000 mulheres.(Kligerman, 2002).

A sobrevida e o intervalo livre da doença aumentaram nos últimos anos, fato este atribuído principalmente à detecção deste tipo de câncer nos estágios iniciais. O rastreamento mamográfico demonstra um aumento significativo no numero de casos na forma sub clínica. (Tabar et al., 1985; Scheiden et al., 2001; Feig, 2002; Duffy et al., 2003).

A sensibilidade deste método varia de 52 a 82% e a especificidade está em torno de 90%, portanto, somente 10% dos cânceres de mama podem não ser detectados pela mamografia (WHO et al., 2002). Por outro lado, métodos como a Tomografia Computadorizada, Termografia mamária e o auto-exame não mostraram eficácia equivalente ao rastreamento do câncer de mama pela mamografia (Harris et al., 1992).

Apesar da mamografia ter se revelado o melhor método para o rastreio das doenças malignas da mama, existem algumas limitações, para sua realização como o exame em mulheres jovens, nas mulheres acima da quinta década de vida que ainda apresentam o parênquima mamário denso e nas que utilizam a terapia hormonal (TH).

Nestes casos a ultra-sonografia foi incorporada como método complementar e auxiliar de diagnóstico. (Mendelson, 1998; WHO et al., 2002; Shetty et al., 2002)

A ultra-sonografia demonstrou nos últimos cinquenta anos uma evolução progressiva e acelerada tanto do ponto de vista tecnológico, como em sua aplicabilidade. Os primeiros aparelhos demonstravam a definição pouco aceitável, enquanto, atualmente, os modernos aparelhos operam com imagens de alta resolução e no tempo real, utilizando transdutores eletrônicos de alta frequência, arquivo de processamento de imagens digitais e recursos de softwares que possibilitam o estudo dos vasos sanguíneos pelo chamado efeito Doppler.

Nos últimos 20 anos os maiores avanços estão no campo das novas técnicas de análise do fluxo, com ou sem uso de agentes de contrastes e a aplicabilidade do recurso de geração de imagem em três dimensões em tempo real (4D). (Sohn et al., 2000; Madjar, 2003)

No entanto existem desvantagens, pois a sensibilidade e a especificidade do ultra-som são, altamente, dependentes da técnica e

experiência do operador e trabalha-se com um campo de visão limitada a poucos centímetros.

As mamas com grande substituição gordurosa tendem a dificultar a visualização das estruturas existentes devido a o menor grau de contraste entre as estruturas.

Além disso, ainda é um método deficiente na detecção de micro calcificações, que podem ser vistas, ocasionalmente, com o uso de aparelhos de alta resolução. Na eventualidade de estarem associadas às massas tumorais, aparecem como minúsculas manchas de ecogenicidade semelhante ao do parênquima e não produzem sombra acústica.(Mendelson, 1998)

A ultra-sonografia tem papel relevante também na complementação de mamografias inconclusivas. Desta forma, associando-se o exame clínico, mamografia e ultra-sonografia, aumenta-se de forma consistente a sensibilidade no diagnóstico das doenças mamárias. (WHO et al., 2002; Kuo et al., 2001; Lucena, 2003).

Ösdemir, et al., 2001, relataram que a associação da ultra-sonografia com a mamografia poderia elevar a sensibilidade e a especificidade para 98,6 e 76,2%, respectivamente em relação ao diagnóstico das patologias mamárias.

Isoladamente a Ultra-sonografia não deve ser utilizada como método de rastreio no câncer de mama, pois não existem estudos

prospectivos e bem controlados que demonstrem seu valor.(Camargo Jr et al., 2003).

As principais indicações para a ultra-sonografia mamária (Harvey et al., 1997; Mendelson, 1998; Sohn et al., 2000; Feld et al., 2001; Schoonjans et al., 2001; Smith et al., 2001; Camargo Jr et al., 2003) são:

- ✚ Caracterização de lesões mamográficas ou massas palpáveis, em cística ou sólidas.
 - ✚ Avaliar massas palpáveis em jovens (abaixo dos 30 anos), grávidas e lactantes.
 - ✚ Identificar abscessos em pacientes com mastites.
 - ✚ Avaliar anormalidades não palpáveis cujo mamografia não fornece dados conclusivos.
 - ✚ Diagnosticar massas em locais onde a mamografia demonstra densidade assimétrica.
 - ✚ Confirmar e melhor visualizar lesões existentes próximas à caixa torácica.
 - ✚ Guiar os procedimentos intervencionistas tais como: aspiração e esvaziamento de cistos, biopsias de fragmentação, punção biopsia aspirativa de agulha fina, drenagem de abscesso, localização pré-cirúrgica e galactografia.
-

- ✚ No acompanhamento do pós-operatório (de cirurgias mamárias) e pós-radioterapia, para a identificação de hematomas, linfocelos, abscesso e recidiva precoce.
- ✚ Esclarecem e tranquilizam a paciente, quando determinam que as lesões palpáveis no exame clínico não correspondem à lesão real tais como: tecido mamário normal e ligamento de Cooper mais saliente, lóbulos de gordura e edema localizados.
- ✚ Uso potencial como fator prognóstico, utilizando-se dos recursos Color Doppler e Power Doppler, estudando-se os vasos sanguíneos do tumor.

Em relação às bases físicas da ultra-sonografia, as ondas sonoras são mecânicas e precisam de um meio físico para se propagar. Elas viajam alternando compressão e rarefação nas moléculas, resultando na formação de uma onda sinusoidal relacionando ciclos em uma unidade de tempo.(Merritt, 1998).

À distância entre duas cristas de onda é denominado comprimento de onda, e, o tempo na qual o comprimento de onda se faz por completo é chamado de período.

Conceitua-se frequência como um determinado número de ciclos completos em uma unidade de tempo. A unidade da frequência acústica é o Hertz (Hz).

O ouvido humano é capaz de captar os sons segmentados na faixa de vinte a vinte mil hz, sendo que frequências acima de 20 000 Hz denominadas ultra-sons.

O principio da ultra-sonografia baseia-se em pulsos de ultra-som, que em uma frequência específica, são transmitidos pelos tecidos, e os ecos refletidos são captados e processados no computador a fim de gerar imagens bidimensionais do tecido analisado, demonstrando-os, graficamente, na escala cinza. Como os diversos tecidos interagem com o ultra-som de diversas maneiras, diferentes níveis de energia acústica são refletidos ao transdutor.

A energia do ultra-som é submetida a dois processos básicos enquanto adentra nos tecidos: atenuação (absorção) e reflexão.

Estes dois processos, e mais a variação da velocidade do som nos diferentes meios são responsáveis pelas características ultrasonográficas específicas dos tecidos em análise.

Um fenômeno importante no diagnóstico ultra sonográfico é a impedância acústica. É definida como a relação da pressão acústica (força de direcionamento) sobre a movimentação molecular induzida no meio onde se encontram.

Propriedades teciduais tais como a densidade e a compressão entre as moléculas que as constituem são importantes na formação da imagem, pois é na interface entre dois meios adjacentes de

diferentes características próprias que ocorre a variação da impedância, ou seja, a divisa acústica que leva a reflexão das ondas sonoras.

Devido os tecidos do organismo humano serem muito símiles apenas uma pequena quantidade da energia ultra-sônica é refletida ao nível da interface dos tecidos adjacentes acusticamente não semelhantes, enquanto que, a maior parte é transmitida e vai adentrando pelos tecidos (99% em média).(Merritt, 1998; Sohn et al., 2000).

1.1. OS RECURSOS COLOR DOPPLER (CD) E POWER DOPPLER (PW)

O efeito Doppler, inicialmente, descrito no século 19, foi introduzido na prática médica nos aparelhos ultra-sonográficos há vinte e cinco anos.

Os antigos aparelhos careciam de sensibilidade para detectar os sinais gerados pelos fluxos dos vasos intracorpóreo, pois operavam com frequência sonora baixa. Este problema este resolvido a partir da década de noventa quando se passou a utilizar os transdutores de alta frequência.

O Doppler é um fenômeno onde a frequência das ondas sonora emitidas de uma determinada fonte é refletida por um objeto em movimento com uma maior ou menor periodicidade que a original.

A frequência de reflexão será maior, caso o anteparo esteja se aproximando da fonte, e menor se o objeto que devolve o som estiver se distanciando.

A diferença das frequências geradas pelas estruturas que se aproximam e daquelas que se distanciam em relação à fonte emissora, é denominada efeito Doppler.

Utiliza-se o Doppler para a visualização de fluxos em áreas restritas e previamente selecionadas. A geração dos sinais se dá

pela reflexão (principalmente pelas hemácias) das ondas sonoras emitida pelo transdutor (fonte). Os vasos que estão perpendiculares ao feixe são mal detectados. O sangue fluindo na direção do feixe resulta em uma mudança de frequência mais alta e um sinal mais intenso.

O espectro do Doppler permite a análise dos parâmetros objetivos do fluxo, realizado com a abertura da janela dupla. A compreensão analítica do espectro deve, primordialmente, incluir a velocidade sistólica máxima (**Vmax ou S**) e a velocidade diastólica final (**Vmin ou D**).

A determinação destas duas características fluxométricas permite o cálculo dos demais índices, tal qual o quociente sístole/diástole (**Q**), o índice de pulsatilidade (**I.P=(S-D)/Q**) e o índice de resistência (**I.R=(S-D)/S**).

O espectro resultante demonstrado no modo duplo, mostra a variação das frequências em uma fração de tempo selecionado.

O gráfico representa as maiores frequências da amostra Doppler selecionada no tempo, a largura desta representação gráfica na escala de cinza é a extensão das frequências em relação ao tempo.

A variação de direção e de velocidade é representada na vertical.

Devido à dependência do ângulo de incidência, que o torna pouco sensível a pequenos vasos sanguíneos e o rastreo muito

trabalhoso, a fim de gerar a variação de frequência necessária para visualização da imagem no Color Doppler, é que se procurou outro método que pudesse suprir esta deficiência. (Merritt, 1998; Lins et al., 1998; Sohn et al., 2000; Madjar, 2003)

O Power Doppler constitui um método Doppler modificado. O princípio físico que dá origem à imagem utiliza a amplitude (intensidade) do som. A intensidade do som é diretamente proporcional ao reflexo causado pelos elementos figurados do sangue (sobretudo pelos glóbulos vermelhos) que adentram no interior dos vasos e reflete o feixe de som em maior largura de banda. Quanto maior a quantidade de sangue maior será a intensidade sonora.

Na realidade é considerada uma técnica não Doppler, pois não usa a variação média de frequências tal qual o Color Doppler propriamente dito; por isso o Power Doppler não consegue realizar a determinação da direção e velocidade do fluxo (Figura 1).

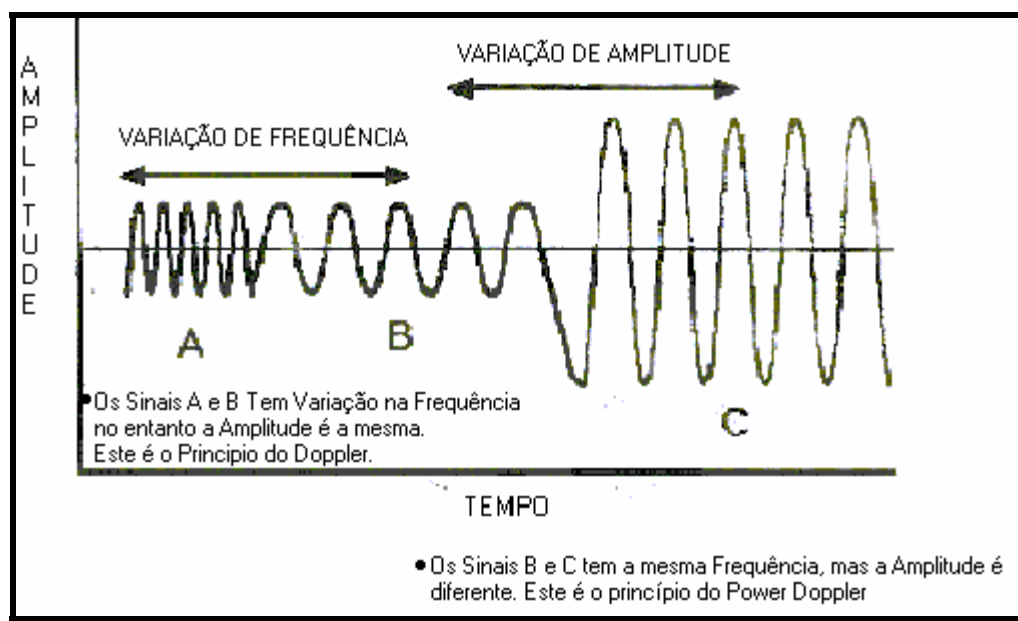


FIGURA 1 - Representação da variação de amplitude na unidade de tempo (princípio da geração de imagem no Power Doppler).

Também é conhecido como a “angiografia ultrasonográfica”, pela maior capacidade e sensibilidade em se visualizar os pequenos vasos utilizando a amplitude do som.

O Power Doppler apresenta como vantagens, a não dependência do ângulo de emissão do som pelo transdutor uma maior sensibilidade na detecção do fluxo sanguíneo e o ruído interfere menos na imagem, pois tem uma coloração de fundo mais homogênea.(Merritt, 1998; Lins et al., 1998; Sohn et al., 2000; Madjar, 2003)

Alguns trabalhos ilustram a superioridade na detecção do fluxo por parte do Power Doppler em comparação com o Color Doppler nas lesões de natureza sólida.(Hayashi et al., 1998; Kook et al., 1999) Sendo possível afirmar que é mais sensível que o Color Doppler três a cinco vezes.(Yang et al., 2002)

O Power Doppler consegue detectar um maior número de vasos que o Color Doppler, no entanto é incapaz de demonstrar a direção e estimar a velocidade do fluxo, além de ser extremamente sensível aos movimentos.(KooK et al., 1999)

Em algumas séries observou-se a presença de vascularização a o recurso Doppler tanto em lesões benignas como nas malignas, mas os vasos são vistos em maior número nas lesões malignas.(Peters-Engl, 1995; Lee et al., 1996; KooK et al., 1999).

A grande sensibilidade do Power Doppler na detecção do fluxo vascular torna impossível a distinção entre as lesões malignas e benignas, baseando-se apenas na análise subjetiva.

O Power Doppler em comparação com o Color Doppler demonstra de forma mais eficaz os vasos sanguíneos, tanto em número como a morfologia segmentar (trajeto com ramificações). (Hayashi et al., 1998)

1.2. RELAÇÃO DO COLOR DOPPLER E POWER – DOPPLER COM CARACTERÍSTICAS PROGNÓSTICAS DO TUMOR

Dixon et al., 1992, notaram que quanto maior o tumor mais vasos eram possíveis de serem vistos ao Color Doppler, fato comprovado por Esterns et al., 1996, que perceberam também a maior vascularização nos tumores grau histológico III, altas taxas de mitoses e de maior comprometimento linfonodal axilar. Lee et al., 1996, observaram que em tumor menor que 2 cm, com vascularização visível ao Color Doppler, a evolução clínica era muito pior em relação aqueles com o mesmo volume, porém, sem vascularização visível.

Peters-Engl et al., 1999, relataram que a Velocidade Máxima do Pico Sistólico é o parâmetro que melhor retrata a característica prognostica dos vasos neoformados, e pacientes com Velocidade Máxima do Pico Sistólico maior que 27 cm/s morriam mais precocemente que as que apresentavam Velocidade Máxima do Pico Sistólico de 17 cm/s.

Mehta et al., 2000, observaram que pacientes com tumores mamários malignos com Velocidade Máxima do Pico Sistólico maior que 25 cm/s, apresentavam um risco de morte por doença metastática de 4,33 vezes maior. Em comparação as pacientes com Velocidade Máxima do Pico Sistólico menor que 25cm/s. Estimaram que

em cinco anos a taxa de sobrevivência nas pacientes com Velocidade Máxima do Pico Sistólico menor que 25 cm/s foi de 82,3% e nas maiores que 25cm/s eram somente de 36,6%.

Martins et al., 2002, utilizando o Color Doppler constataram a diminuição na vascularização nos tumores responsivos à quimioterapia, e aumento da trama vascular naqueles onde a resposta estava ausente.

Mehta et al., 1998, afirmaram que tumores sem vascularização visível ao Power Doppler apresentavam menos comprometimento linfonodal e dos vasos linfáticos.

O tamanho do tumor é fator fundamental para a visualização e quantificação do numero de vasos no Power Doppler Mehta et al., 2000; Yang et al., 2002; Reinikainen et al., 2002, notaram maior vascularização nos tumores grau histológico III.

No tratamento do câncer de mama o conhecimento dos fatores que afetam o prognóstico é de grande importância. Osanai et al., 2003, utilizaram o recurso Power Doppler, e o comparou ao índice prognóstico de Nottingham. Demonstraram o potencial da ultra-sonografia em predizer uma má evolução dos tumores com vascularização visível.

1.3. ANÁLISE DA VASCULARIZAÇÃO DO TUMOR COM USO DO COLOR DOPPLER E POWER DOPPLER

Peters-Engl et al., 1995, realizaram análise comparativa das características do fluxo de lesões benignas com as malignas com uso do Color Doppler demonstraram que em lesões benignas o Índice de Resistividade, Índice de Pulsatilidade, Velocidade Máxima do Pico Sistólico eram $0,60(\pm 0,11)$, $1 (\pm 0,30)$ e $13 \text{ cm/s } (\pm 6)$ respectivamente, e nas lesões malignas eram $0,75 (\pm 0,07)$, $1,49 (\pm 0,39)$ e $22 \text{ cm/s } (\pm 12)$. Portanto o Índice de Resistividade, Índice de Pulsatilidade e o Velocidade Máxima do Pico Sistólico são maiores nas lesões malignas.

Holcombe et al., 1995, afirmaram, que quando o Color Doppler demonstrava sinais em lesão com menos de treze milímetros, esta lesão provavelmente era maligna.

Hayashi et al., 1998, propuseram um sistema de escore subjetivo para analisar a vascularização do tumor, tanto no uso do Color Doppler quanto ao Power Doppler: hipovascularizado, moderadamente vascularizado, hipervascularizado e extremamente vascularizado. Por sua vez, Sohn et al., 2000, adotaram um tipo de classificação também subjetiva, porém passível de ser reproduzida (no uso do Power Doppler): Classe I lesão apresentando somente pontos coloridos isolados não contíguos (isto é sem áreas coloridas); classe II lesão associada a uma

área colorida visível; classe III lesão associada a mais de uma área colorida.

Sung-Wo et al., 2002, utilizando o Power Doppler sugeriram uma outra classificação subjetiva: avascular, definida como ausência de fluxo vascular; hipovascularizado, quando eram detectados de um a dois sinais ou quando a área menor que 10% em volta do tumor mostrava sinais vasculares e hipervascularizados quando uma grande área ao redor do tumor mostrava os sinais provenientes de vasos.

Sung-Wo et al., 2002, afirmaram que a análise quantitativa dos vasos pelo Power Doppler (utilizando contraste, Levovist®) ilustra de forma mais fidedigna a densidade dos micro-vasos do tumor. Sendo possível prever o potencial angiogênico do tumor no período pré-operatório, no entanto, Yang, et al. 2002 demonstraram que o uso de contraste não alterava os resultados de forma estatística significativa.

1.4. ANGIOGÊNESE

Os tumores com volume de até 0,5 milímetros, são nutridos e oxigenados por difusão (fase pré-vascular). Para que haja continuidade no processo de desenvolvimento do tumor, e estes tenham a capacidade de metastatizar, é importante a formação de vasos sanguíneos.(Folkman, 1998; Fidler et al., 2001; Jardines et al., 1998).

O processo de vascularização do tumor inicia-se pela degradação local da membrana basal que rodeia os capilares, em seguida há a invasão do estroma pelas células endoteliais subjacentes que irão ao encontro do estímulo angiogênico. Concomitantemente, a medida em que as células endoteliais vão migrando, outras entram num processo de multiplicação celular em três dimensões, de modo a formar túbulos, e estes se ligam a outras estruturas similares dando origem a uma rede de vasos sanguíneos que nutrirão e permitirão a expansão local e a distância do tumor (Figura 2).

O acesso a angiogênese envolve a alteração no balanço entre as moléculas pró-angiogênicas e anti-angiogênicas. Denomina-se fator pró-angiogênico aquele que, seletivamente altera as características das células endoteliais e das estruturas perivasculares associadas.(Fidler et al., 2001; Wiltmer et al., 2001).

Os fatores que estimulam a secreção das moléculas pró angiogênicas são: hipóxia, baixo pH, citosinas, fatores de crescimento, tamanho do tumor, oncogenes ativados e a perda da função do gene de supressão do tumor.(Fildler et al., 2001).

As células do tumor secretam, os fatores de crescimento angiogênico que se ligam aos seus respectivos receptores no endotélio celular. Esta estrutura molecular leva a proliferação do endotélio celular, migração, invasão e, eventualmente, a formação do túbulo capilar.

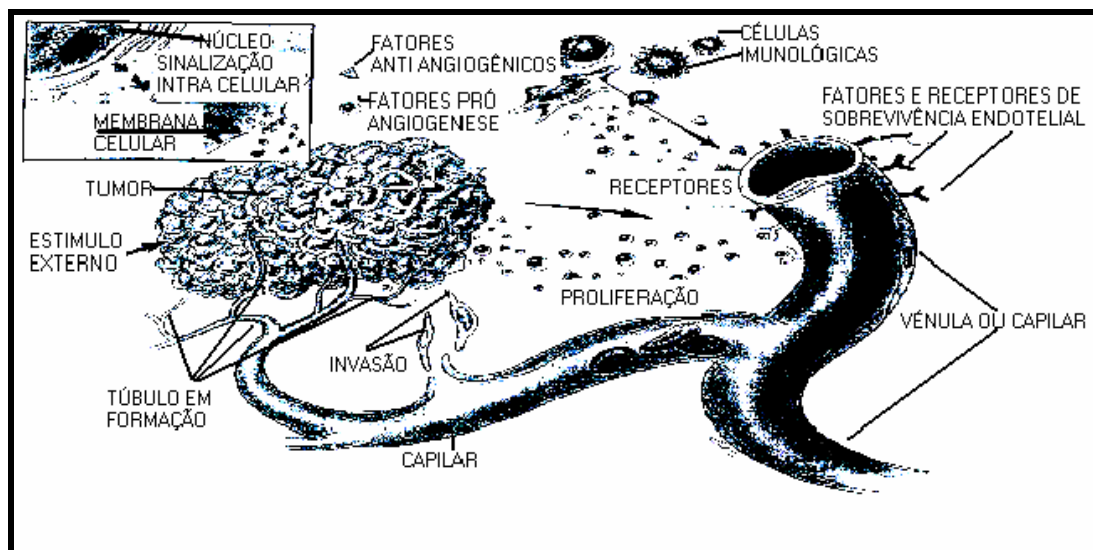


FIGURA 2 - Representação do mecanismo de neo angiogênese

A ausência do fator angiogênico básico de crescimento fibroblástico (β FGF), tende a demonstrar melhor índice de sobrevivência em indivíduos que não demonstram a sua expressão positiva.(Faridi et al., 2002).

O processo de angiogênese consiste em uma cadência de fases seqüenciais e interligadas, que culminam no desenvolvimento da fonte neovascular supridora de sangue para a massa do tumor. Diferentes etapas de formação de vasos poderão ocorrer em diversos locais do tumor ao mesmo tempo, metacrônicamente ao processo de expansão vascular as células tumorais crescem ao redor dos vasos neoformados. Cerca de três a quatro (ou até mais) camadas concêntricas de células cancerosas podem circular um único túbulo capilar. (Folkman, 1998)

Os processos neoplásicos benignos tendem ter a vascularização formada de forma lenta na maioria das vezes. Já as expansões celulares tendem a crescer de forma rápida e serem altamente vascularizadas.

Entender os mecanismos que levam a formação destes vasos que servem de via de chegada dos nutrientes e saída das células em sua rota para a expansão pelo corpo, é de grande relevância no que tange a busca de meios para o combate desta modalidade de estímulo no desenvolvimento do tumor.

A angiogênese não ocorre somente nos processos patológicos. Tem suma importância na manutenção da homeostase, reprodução, epitelização em processos de cicatrização, ciclos menstruais e nas doenças vasculares (coronariopatias e doenças vasculares periféricas).(Fildler et al., 2001).

No câncer de mama a alta taxa de densidade vascular dentro do tumor detectado no exame anatomopatológico, correlaciona-se com altas taxas de recorrência, independentemente de outros fatores prognósticos.(Yang et al., 2002).

Weidner et al., 1991, foram os pioneiros em quantificar a angiogênese do tumor nos cânceres de mama através da coloração vascular utilizando o antígeno fator VIII e correlacionando-o como um fator prognóstico independente.

Abreu et al., 2001, relacionaram os obstáculos para a aceitação da densidade vascular do tumor como fator prognostico de forma rotineira; eles concluíram que o emprego de diferentes fatores na marcação endotelial (fator VIII, CD 31, CD34) e o tempo de seguimento variável dos diversos trabalhos eram as principais causas desta resistência.

Nakayama et al., 2001, relataram que o anticorpo CD 34 tem uma sensibilidade superior ao antígeno fator VIII na coloração dos vasos tumorais, isto porquê consegue colorir o endotélio dos vasos pouco

diferenciados. No entanto deve-se observar minuciosamente a forma dos vasos (verificar a presença do lúmen), pois o CD 34 colore também algumas células tumorais, fibroblastos do estroma e células inflamatórias.

Gunel et al., 2002, demonstraram que pacientes na pré-menopausa tendiam a terem maior densidade vascular do tumor que aquelas na pós-menopausa.

1.5. CORRELAÇÃO ENTRE O COLOR DOPPLER, POWER DOPPLER E A ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA DA DENSIDADE VASCULAR DO TUMOR (DVT)

Sterns et al., 1996, utilizando o Color Doppler analisaram duzentos quarenta e nove pacientes com câncer de mama, e destas, cinquenta e uma (24,6%) apresentavam vascularização visível ao Color Doppler. A Densidade Vascular do Tumor foi avaliada utilizando o antígeno Fator VIII. Encontraram diferença estatisticamente significativa entre os tumores que tinham a Densidade Vascular do Tumor maior que 80, estes, correspondiam cerca de 61,5% dos tumores com vascularização visível ao Color Doppler no período pré-operatório.

Peter-Engl et al., 1998, demonstraram que a Densidade Vascular do Tumor representa bem a rede micro vascular, enquanto que o Color Doppler visualiza a macro vascularização do tumor.

Um estudo que induzia o surgimento de tumores malignos em animais demonstrou um maior número de vasos visíveis na periferia, tanto ao uso do Power Doppler bem como pela imunohistoquímica. Este também determinou que o diâmetro dos vasos tumorais vistos ao Power Doppler era de aproximadamente 100µm, e no exame anatomopatológico de 15 µm. (Fleischer et al., 1999).

Tozaki et al., 2000, realizaram a análise espectral do Power Doppler e compararam as inúmeras variáveis com a densidade vascular do tumor; notaram que a velocidade máxima no pico sistólico (Velocidade Máxima do Pico Sistólico) era maior em tumores com alta Densidade Vascular. Densidade Vascular menor que 100 a Velocidade Máxima do Pico Sistólico era de $12 (\pm 6)$ cm/s, e maior que 100, Velocidade Máxima do Pico Sistólico igual a $35 (\pm 15)$ cm/s.

Sung-Won et al., 2002, fizeram uso do anticorpo CD34 e obtiveram nos resultados uma maior quantidade de vasos sanguíneos na periferia dos tumores e observaram também, que a contagem do número de vasos vistos no Power Doppler correlacionava-se melhor com a Densidade Vascular do Tumor, pois ambos são métodos semiquantitativos na determinação da angiogênese. A vantagem no uso do Power Doppler está no fato de realizar a análise no pré-operatório.

Yang et al., 2002, afirmaram que a análise do número de vasos ao Power Doppler melhor reflete a Densidade Vascular do Tumor que a Velocidade Máxima do Pico Sistólico obtida pelo Color Doppler.



2. Objetivo

Verificar a existência de uma possível correlação entre a vascularização visível na ultra-sonografia, pelos recursos Color Doppler, e Power Doppler com os resultados obtidos no exame Anátomopatológico utilizando o corante imunohistoquímico anticorpo CD34, para determinar a Densidade Vascular do Tumor em carcinoma de mama.



3. Casuística e Métodos

3.1. PACIENTES

Foram selecionadas trinta e cinco pacientes com tumor palpável em uma das mamas e que posteriormente tiveram o diagnóstico confirmado, de carcinoma de mama, do Ambulatório de Mastologia do Hospital Geral de Itaquaquecetuba – Organização Social de Saúde Santa Marcelina – São Paulo, que é referência para nove municípios da região, no período de março de 2002 a setembro de 2003. Todas pacientes eram beneficiárias do sistema unificado de saúde e foram atendidas pelo autor do trabalho com a colaboração de outros dois ultra-sonografistas com experiência comprovada na interpretação da ultra-sonografia mamária.

As pacientes eram informadas que o procedimento ultra-sonográfico serviria apenas para experimentação, e que não seria utilizado para a determinação do tipo de tratamento a ser adotado.

3.2. ANÁLISE ULTRA – SONOGRAFICA

Foram utilizados dois tipos de aparelhos (ATL HDI 1500 e TOSHIBA 340 A), ambos com transdutor linear multifrequencial de 5 a 10 megahertz (MHz) sendo utilizado a frequência de oito MHz (ajuste manual), com diminuição a 50 decibéis (dB) no filtro para a eliminação dos ruídos, e a nitidez da imagem foi ajustada manualmente e de forma empírica a cada paciente.

As pacientes foram avaliadas por dois procedimentos ultra-sonográficos no mesmo dia. O procedimento inicial foi realizado com o aparelho ATL HDI 1500, pelo autor do trabalho e confirmado pelo Dr. Marco Aurélio Alves Amaro. Nesta avaliação foram analisados o Color Doppler e o Power Doppler. O segundo procedimento foi feito imediatamente após o anterior com o aparelho Toshiba 340 A, também realizado pelo autor do trabalho juntamente com outro ultra-sonografista (Dr. José Celestino de Araújo Júnior).

Todos os ultra-sonografistas tiveram o cuidado de realizar uma pressão manual discreta, de modo a não colabar os vasos tumorais.

No início dos exames as mamas eram avaliadas em todos os quadrantes seguido de atenção maior no local onde se localizava o tumor, onde se obtinha a medida geométrica do tumor em milímetros, e passava-se a estudar a vascularização do tumor através do Color Doppler

(obtendo-se os parâmetros hemodinâmicos Índice de Resistividade, Índice de Pulsatilidade e Velocidade Máxima no Pico Sistólico não incluímos o Quociente Sístole Diástole nem a Velocidade Mínima no Final da Diástole neste trabalho), e após com o Power Doppler para a visualização quantitativa dos vasos tumorais.

A análise do Índice de Resistividade, Índice de Pulsatilidade e Velocidade Máxima do Pico Sistólico na presença de dois ou mais vasos, era realizado de forma individual e após se calculava o valor médio de cada parâmetro, conforme relatado por Madjar, 2003.

Na avaliação do Power Doppler, a vascularização foi classificada em classes, de acordo com as classificações de Sohn et al., 2000; Sung-Wo et al., 2002:

- ✚ **CLASSE 0:** Lesão sem vascularização.
- ✚ **CLASSE I:** Lesão que apresenta somente um ponto colorido isolado.
- ✚ **CLASSE II:** Lesão que apresenta uma área colorida em um segmento da lesão.
- ✚ **CLASSE III:** Lesão que apresenta várias áreas coloridas, em vários segmentos da lesão.

Todos os exames foram registrados em fotografias.

3.3. ANÁLISE ANATOMOPATOLÓGICA

Após o tratamento cirúrgico definitivo e adequado a cada paciente, as peças eram conservadas em formalina líquida a 10%, encaminhadas ao laboratório de anatomia patológica do Hospital Santa Marcelina de Itaquera, e coradas pelo método da Hematoxilina e Eosina. Todas as peças foram analisadas pelo mesmo patologista (Dr. Moacyr Pesati Righeiro).

3.4. EXAME DE IMUNOHISTOQUIMICA

Foi realizada a detecção pela técnica imuno-histoquímica do anticorpo CD 34, para a determinação da Densidade Vascular do Tumor, através da contagem dos vasos corados nos 10 campos, à microscopia óptica, em aumento de 400 vezes.

Os blocos de parafina, contendo o material processado, foram resfriados em congelador e cortados em micrótomo rotativo, de onde foram obtidos cortes histológicos de 3 a 4 μm de espessura, utilizando-se navalhas descartáveis próprias para este fim. As fitas de parafina obtidas no processo de corte pela microtomia foram colocadas em banho Maria e os cortes depositados em lâminas previamente tratadas com o 3-aminopropiltriétoxissilano (APTS). As lâminas com os cortes foram levadas a estufa a 60°C e lá deixadas por vinte e quatro horas para melhor adesão tecidual.

3.4.1. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- 1) Desparafinização com o xilol a quente (60°C) por 15 minutos.
 - 2) Hidratação com álcool em várias concentrações indo do absoluto para cubas diluídas em água destilada (respectivamente 100%, 95%, 80% e 70%), trocas a cada 30 segundos.
 - 3) Lavagem em água corrente
 - 4) Recuperação antigênica para o CD 34, utilizou-se o microondas imergindo as lâminas em solução tampão citrato de sódio 10 mM, pH 6.0 por 30 minutos, resfriando-as a temperatura ambiente por 20 minutos.
 - 5) Bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio a 6% diluído a 20 volumes, em três banhos de 5 minutos cada, seguidos no fim por lavagem em água corrente e em tampão PBS (solução salina de 10 mM, pH 7.4 tamponada com fosfatos).
 - 6) Incubação do anticorpo primário (diluído em albumina bovina Fração V Inlab Brasil código 1870 em câmara úmida a 4°C overnight na geladeira. Utilizado os anticorpos.
 - 7) MxCD34 – Dako/M7165/Lote 077(202). Título 1/50 procedimento microondas.
-

8) Lavagem em solução de PBS.

9) Incubação DAKO LSAB+KIT, peroxidase código KO690, que possui dois frascos:

1. FRASCO 1: Solução DAKO LSAB + SYSTEM, LINK n°Ko690: ("Biotinylate anti-mouse, rabbit e goat") por 30 minutos em temperatura ambiente.

Lavagem em solução de PBS

2. FRASCO 2: Solução DAKO LSAB+HRP, LINK ("Streptavidin conjugated to horseradish peroxidase") por 30 minutos em temperatura ambiente.

Lavagem em solução de PBS

10) Revelação da reação utilizando –se solução substrato: 60 mgde Diaminobenzidina (3,3 – Diaminobenzidine Tetrahyrichloride Sigma Chemical CO USA código D5637), 600µl de água oxigenada a 30 volumes, 100 ml de PBS e 1 ml de dimetilsufóxido, as lâminas ficaram nesta solução por 5 minutos a 37°C, ao abrigo da luz, observando-se o tecido até adquirir uma tonalidade castanha escuro, produto final da reação.

11) Lavagem em água corrente.

12) Contra coloração utilizando-se Hematoxilina de Harris por 1 minuto.

13) Imersão das lâminas em água amoniacal (solução de hidróxido de amônio a 0,2 %)

14) Lavagem em água corrente.

15) Desidratação dos cortes em álcool absoluto. Imersão das lâminas em xilol.

16) Montagem das lâminas com lamínulas e Entellan Merck.

Na análise imunohistoquímica só foram considerados os vasos com o lúmen bem evidente; os vasos fragmentados durante o corte e as estruturas coradas, porém sem a luz visível, foram excluídos.

A análise da Densidade Vascular do Tumor foi baseada em trabalho de Gunel et al., 2002. Esta contagem foi realizada escolhendo a área do tumor com maior vascularização contando 10 campos com aumento de 400 vezes à microscopia óptica.

✚ Grupo A: menos que cinqüenta vasos

✚ Grupo B: entre cinqüenta a setenta e cinco vasos.

✚ Grupo C: mais que setenta e cinco vasos.

3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Realizou-se uma análise descritiva dos dados, composta por tabelas de contingência, gráficos e medidas-resumo adequadas à natureza e ao nível de mensuração de cada variável tratada.

Para avaliar a associação entre uma variável numérica e outra categórica com dois níveis, empregou-se o teste t de Student para amostras não relacionadas. Se houvesse três ou mais níveis, a técnica estatística utilizada foi à análise de variância com um fator fixo. Na associação entre variáveis numéricas (como a Densidade Vascular do Tumor e o número de vasos à ultra-sonografia) foi calculado o coeficiente de correlação linear de Pearson. A possibilidade de concordância entre os tamanhos do tumor avaliados pela Ultra-sonografia e pelo exame anatomopatológico foi estudada com o emprego do gráfico de Bland-Altman e pelo cálculo do coeficiente de correlação interclasses (Altman, 1997; Dória Filho, 1999).



4. Resultados

4.1. IDADE

A idade das pacientes variou de 36 a 86 anos (média de 65,11 anos). Tabela 1.

4.2. RELAÇÃO ENTRE A VASCULARIZAÇÃO AO COLOR DOPPLER E POWER DOPPLER COM A IDADE E O TAMANHO DO TUMOR AO ULTRA-SOM

A análise dos dados obtidos e a relação com a idade, o tamanho do tumor ao ultra-som e ao exame anatomopatológico, os parâmetros hemodinâmicos do Color Doppler (**IR, IP, Vmax**), as classes do Power Doppler e a Densidade Vascular do Tumor (DVT) absoluta e por grupos mostrou a presença de vascularização visível ao ultra-som em vinte e um tumores e a ausência em quatorze. (Tabela 1).

TABELA 1 - Resultado da amostra em relação à Idade, Tamanho do tumor a Ultrasonografia (USG) e tamanho do tumor ao exame Anátomopatológico (A.P), Parâmetros hemodinâmicos do Color Doppler e Classes do Power Doppler e a Densidade Vascular do Tumor.

Casos	Idade	Tamanho do Tumor ao USG (mm)	Tamanho do Tumor ao AP (mm)	Vasos ao P.W (Classe)	I.R (media)	I.P (media)	V max (media) cm/s	DVT absoluto	DVT Grupos
1	78	13,8	14	Classe 0	----	----	----	192	Grupo C
2	48	31	20	Classe II	0,78	2,17	14	101	Grupo C
3	45	16	8	Classe 0	----	----	----	183	Grupo C
4	63	49	40	Classe III	0,79	1,49	31	81	Grupo C
5	71	23,4	22	Classe 0	----	----	----	62	Grupo B
6	71	20	14	Classe 0	----	----	----	56	Grupo B
7	45	21	22	Classe II	0,75	1,36	12,5	108	Grupo C
8	60	13	6	Classe 0	----	----	----	127	Grupo C
9	54	27	35	Classe II	0,72	1,8	11	160	Grupo C
10	50	22	35	Classe 0	----	----	----	98	Grupo C
11	56	11,7	18	Classe 0	----	----	----	90	Grupo C
12	76	18,7	35	Classe 0	----	----	----	60	Grupo B
13	70	17,6	20	Classe 0	----	----	----	48	Grupo A
14	81	30	25	Classe III	0,72	7	21	92	Grupo C
15	41	37,1	41	Classe III	0,71	2,72	23,6	137	Grupo C
16	36	79	60	Classe III	0,8	1,58	10,20	69	Grupo B
17	54	16,4	25	Classe III	0,8	1,35	12	104	Grupo C
18	65	31,4	35	Classe I	0,71	1,33	8,5	56	Grupo B
19	74	34,2	35	Classe III	0,9	1,89	11,7	51	Grupo B
20	84	100	40	Classe I	0,82	1,68	16,63	72	Grupo B
21	86	13,8	34	Classe I	0,89	1,73	38,01	100	Grupo C
22	70	8,7	28	Classe I	0,79	1,53	12,5	54	Grupo B
23	62	8	14	Classe I	1	3	3	47	Grupo A
24	86	2,7	8	Classe 0	----	----	----	70	Grupo B
25	49	13,6	12	Classe I	0,96	1,87	16,19	198	Grupo C
26	48	12,8	14	Classe 0	----	----	----	64	Grupo B
27	67	26,6	28	Classe 0	----	----	----	119	Grupo C
28	43	28,3	50	Classe 0	----	----	----	118	Grupo C
29	46	19,7	25	Classe III	0,87	1,67	18,82	103	Grupo C
30	38	58	70	Classe III	0,6	0,86	18,30	234	Grupo C
31	66	11,8	14	Classe 0	----	----	----	167	Grupo C
32	58	19	25	Classe I	0,96	1,99	13,53	36	Grupo A
33	66	27,6	20	Classe I	0,69	1,11	18,35	45	Grupo A
34	58	24	22	Classe III	0,75	1,2	8	168	Grupo C
35	62	27,8	22	Classe III	0,82	2	8	58	Grupo B

4.3. RELAÇÃO ENTRE OS TUMORES SEM VASCULARIZAÇÃO AO ULTRA-SOM E O TAMANHO DO TUMOR

Em quatorze pacientes não se observou a vascularização dos tumores ao Color Doppler e Power Doppler. A distribuição desta amostra em relação ao tamanho do tumor encontra-se na tabela 2.

TABELA 2 - Distribuição da amostra de tumores sem vascularização visível ao ultra-som em relação ao tamanho do tumor em milímetros.

Tamanho do tumor (mm)	Vascularização Ausente	Vascularização Ausente
	Frequência	Porcentagem
> 20	4	28,5
<20	10	71,5
Total	14	100

4.4. RELAÇÃO ENTRE OS TUMORES VASCULARIZADOS AO ULTRA-SOM E O TAMANHO DO TUMOR

Vinte e uma pacientes apresentavam vascularização do tumor visível ao Color Doppler e Power Doppler. A distribuição desta amostra em relação ao tamanho do tumor encontra-se na tabela 3.

TABELA 3 - Distribuição da amostra de tumores com vascularização visível no ultra-som em relação ao tamanho do tumor em milímetros.

Tamanho do tumor (mm)	Vascularização Presente	Vascularização Presente
	Frequência	Porcentagem
>20	14	67
<20	7	33
Total	21	100

4.5. CONCORDÂNCIA ENTRE O TAMANHO ULTRASONOGRÁFICO DO TUMOR E TAMANHO DO TUMOR NO EXAME ANATOMOPATOLÓGICO

A média do tamanho mensurado pela ultra-sonografia era bastante aproximada a aquela vista ao exame anatomopatológico, no entanto não houve significância estatística, pois, a amostra do tamanho obtido pela ultra-sonografia foi muito dispersa (Tabela 4 e Figura 3).

TABELA 4 - Tamanho do tumor (mm) obtido pela Ultra-sonografia versus tamanho do tumor (mm) ao exame Anatomopatológico.

	Média do tamanho do tumor (mm)	Desvio padrão	Tamanho mínimo (mm)	Tamanho máximo (mm)	Assimetria	Curtose
Tamanho do tumor a Ultra-sonografia.	26,14	19,53	2,70	100,00	2,31	6,28
Tamanho do tumor ao exame anátomo patológico.	26,74	14,29	6,00	70,00	1,10	1,57

A relação entre o tamanho do tumor observado pela ultra-sonografia (USG) e pelo exame anatomopatológico (AP), apresenta as medianas muito próximas uma da outra. Nas pacientes n° 16, 20 e 30 a relação do tamanho do tumor entre a ultra-sonografia e o exame anatomopatológico foi muito discrepante. Nas pacientes 16 e 20 o tamanho do tumor foi bem maior pela ultra-sonografia do que o encontrado no exame anatomopatológico, enquanto na paciente n° 30 o tamanho do tumor foi maior pelo exame anatomopatológico em relação à ultra-sonografia.

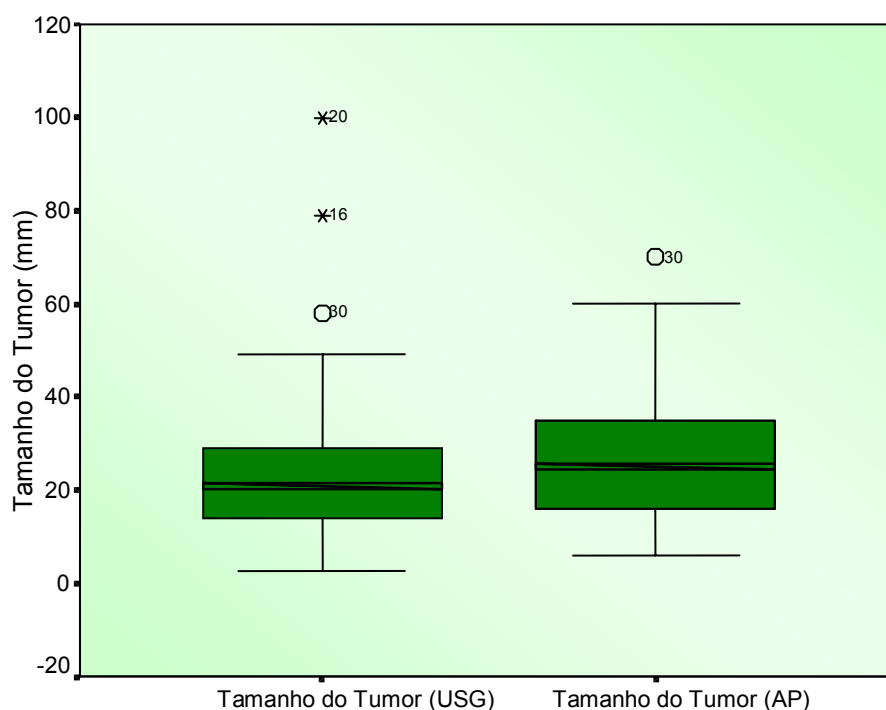
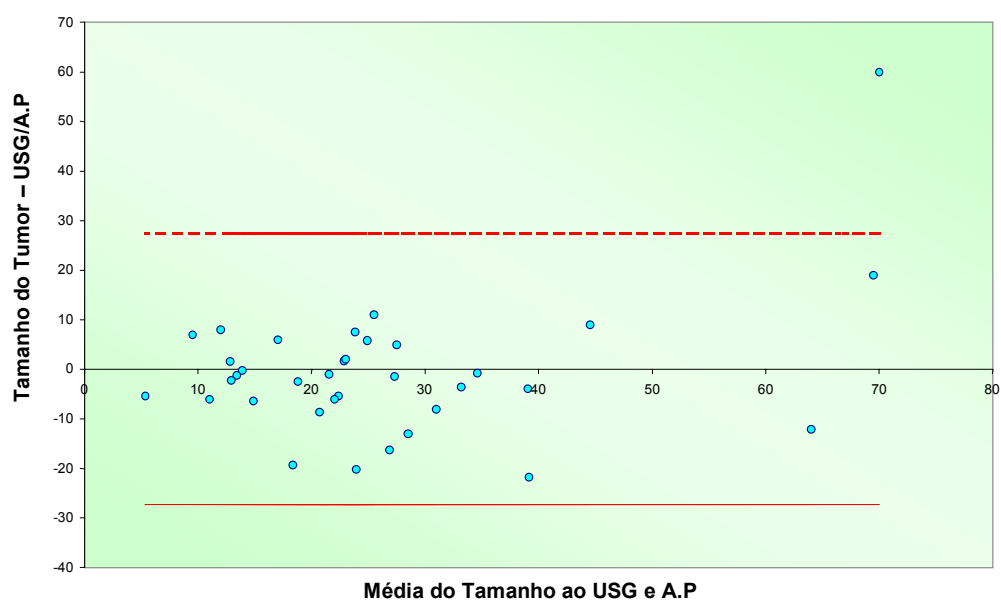


FIGURA 3 - Distribuição das pacientes quanto ao tamanho do tumor avaliado pela ultra-sonografia e pelo exame anatomopatológico.

Observou-se também boa concordância para obtenção do tamanho do tumor entre os dois métodos (Figura 4). No entanto na paciente n° 20 a medida ultra-sonográfica (100 mm) foi muito diferente da encontrada ao exame de anatomopatológico (40 mm). Este foi um ponto aberrante no conjunto de dados, tendo sido necessário excluir esta informação para o cálculo do coeficiente de correlação interclasse.



*Coeficiente de correlação interclasse = 0,793 (0,672-0,891).

FIGURA 4 - Gráfico de Bland-Altman para comparar as medidas do tumor obtidas pela ultra-sonografia e pelo exame anátomopatológico.

4.6. DETERMINAÇÃO DO V MAX, ÍNDICE DE RESISTIVIDADE, I.P, ATRAVÉS DO COLOR DOPPLER

As Figuras 5 e 6 ilustram a a medida dos parâmetros hemodinâmicos do Color Doppler, (V max, I.R, e I.P).

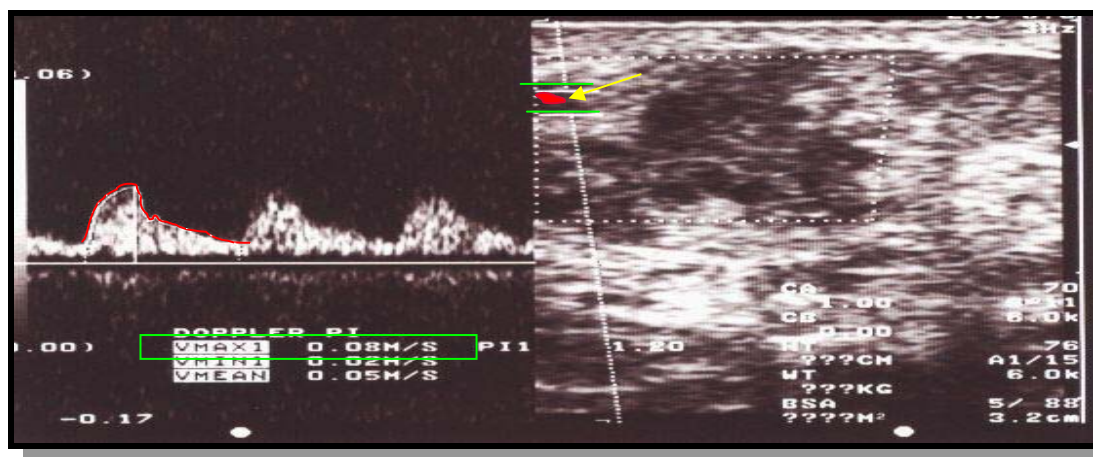


FIGURA 5 - Vaso detectado e selecionado através do Color Doppler (flecha em amarelo), utilizando o aparelho ATL HDI 1500, imagem em modo Duplo. Notar o traçado feito manualmente (em vermelho) sobre o espectro e o calculo automático da V max .

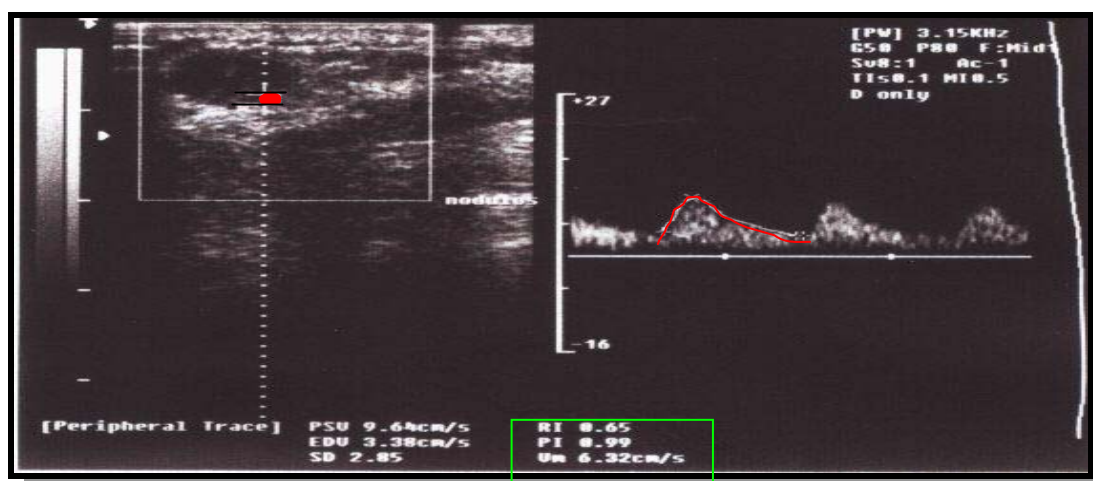


FIGURA 6 - Imagem em modo duplo: a esquerda demonstra o tumor e um vaso selecionado na periferia (em vermelho), e a direita o espectro sobre o qual há um traçado manual (em vermelho) para a interpretação automática dos parâmetros hemodinâmicos (V max, IR e IP) do Color Doppler. (ATL HDI 1500).

4.7. RELAÇÃO DA VELOCIDADE MÁXIMA DO PICO SISTÓLICO (VMAX), ÍNDICE DE RESISTIVIDADE (I. R) E ÍNDICE DE PULSATILIDADE (I. P) COM A DENSIDADE VASCULAR DO TUMOR (DVT)

Nos vinte e um casos, onde a vascularização foi visualizada por ambos os métodos ultra-sonográficos, a medida da média da V max mostrou-se maior no grupo C. O Índice de Resistividade e o Índice de Pulsatilidade foram maiores no grupo A, (Tabela 5 e Figuras 7, 8 e 9). A curtose ausente no grupo A, deve-se à presença de apenas quatro indivíduos nesta amostra.

TABELA 5 - Medidas descritivas de Velocidade Máxima no Pico Sistólico, Índice de Resistividade e Índice de Pulsatilidade, em comparação com a Densidade Vascular do Tumor.

Grupo da DVT		Vmax (cm/s)	IR	IP
A	Média	11,63	0,88	2,03
	Desvio-padrão	7,85	0,17	0,95
	Mínimo	3,00	0,69	1,11
	Máximo	18,00	1,00	3,00
	Assimetria	-1,03	-1,62	0,21
	Curtose	.	.	.
B	Média	11,26	0,81	1,67
	Desvio-padrão	3,16	0,06	0,25
	Mínimo	8,00	0,71	1,33
	Máximo	17,00	0,90	2,00
	Assimetria	0,96	-0,12	0,11
	Curtose	0,83	1,90	-0,82
C	Média	18,70	0,78	1,66
	Desvio-padrão	8,73	0,10	0,50
	Mínimo	8,00	0,60	0,86
	Máximo	38,00	0,96	2,72
	Assimetria	1,12	0,22	0,67
	Curtose	0,93	0,55	1,08

Em relação à mediana da Velocidade Máxima no Pico Sistólico (V max), observou-se que a das pacientes do grupo C é maior em relação às dos grupos A e B, no entanto sem correlação estatística significativa. Na paciente n° 21 a V max foi de 38,01 cm/s, a maior desta amostra.

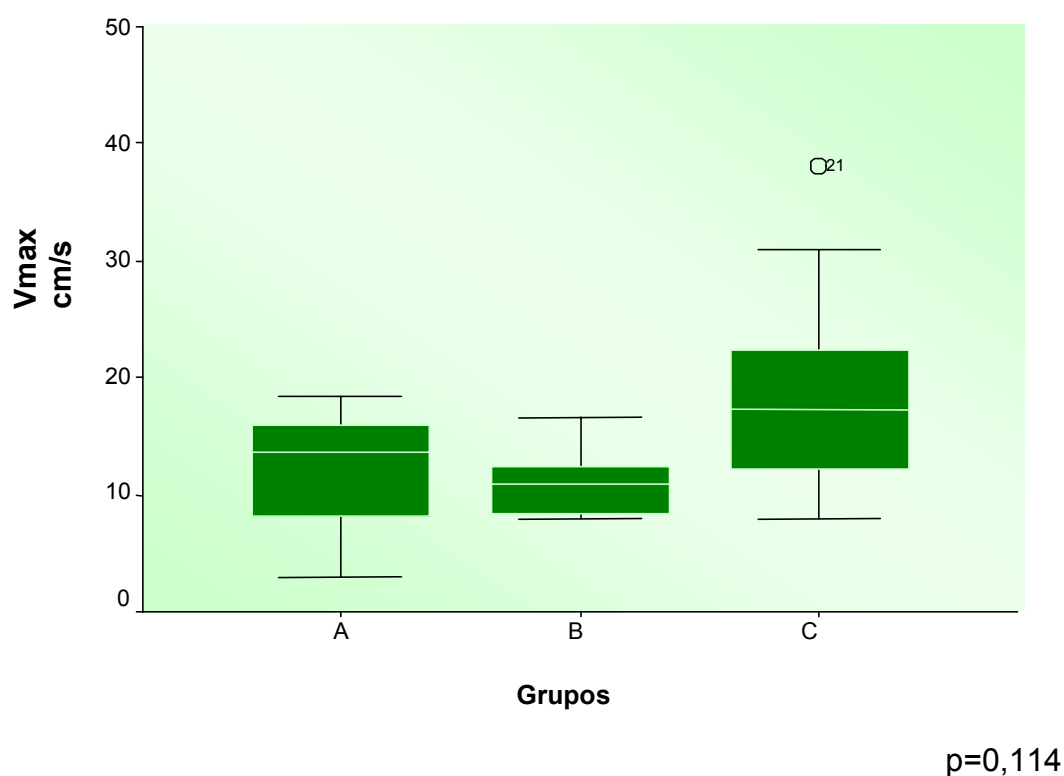
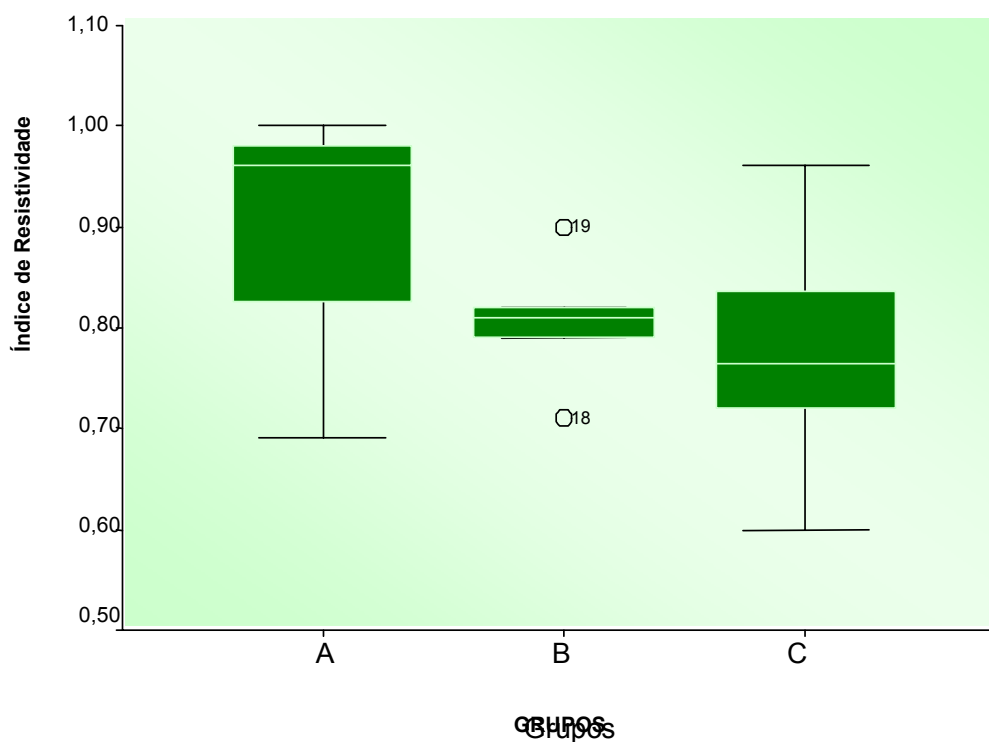


FIGURA 7 - Relação da Velocidade Máxima no Pico Sistólico (Vmax) nos Grupos A, B, C da Densidade Vascular do Tumor (DVT).

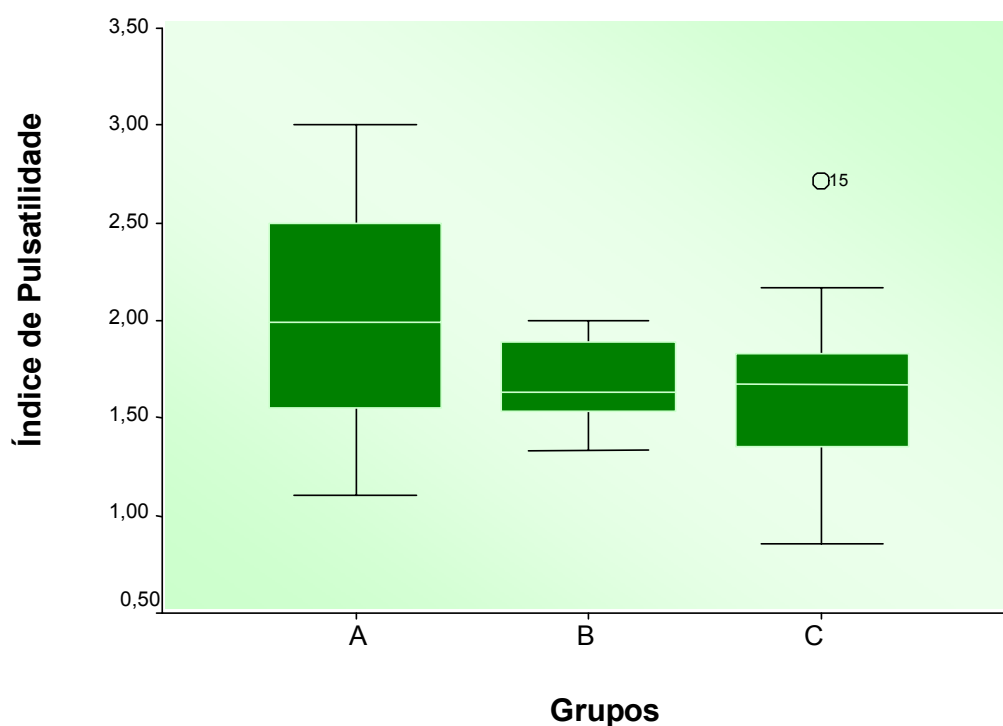
A mediana do Índice de Resistividade (I. R), foi maior nas pacientes do grupo A do que nos grupos B e C, entretanto sem significância estatística. No grupo B a maior parte da amostra foi confinada entre os percentís 25 e 75. As pacientes n° 18 (IR= 0,71) e 19 (IR= 0,9) foram respectivamente os valores mínimo e máximo observados.



p=0,532

FIGURA 8 - Relação do Índice de Resistividade (I. R) nos Grupos A, B, C da Densidade Vascular do Tumor (DVT).

A mediana do Índice de Pulsatilidade (IP) foi maior nas pacientes do grupo A em relação aos grupos B e C, no entanto sem significância estatística. A paciente n° 15 (grupo C), apresentou o valor discrepante em relação aos valores desta amostra (valor de 2,72).



p=0,279

FIGURA 9 - Relação do Índice de Pulsatilidade (I.P) nos Grupos A, B, C da Densidade Vascular do Tumor (DVT).

4.8. VASCULARIZAÇÃO VISÍVEL E DETERMINAÇÃO DAS CLASSES PELO POWER DOPPLER

Em vinte e uma pacientes foram detectados vasos pelo Power Doppler (Toshiba 340 A), e distribuídas em classes com suas respectivas frequências. A menor frequência (8,57%) foi observada na classe II (Tabela 6).

TABELA 6 - Distribuição da amostra quanto a Vascularização vista ao Power Doppler.

Vascularização vista ao Power Doppler	Nº de pacientes (Frequência)	Porcentagem de pacientes
Classe 0	14	40,00
Classe I	8	22,86
Classe II	3	8,57
Classe III	10	28,57
Total	35	100,00

A interpretação e distribuição em classes, levando-se em consideração as características vasculares observadas ao Power Doppler (Toshiba 340 A) estão ilustradas nas Figuras 10, 11, 12 e 13.

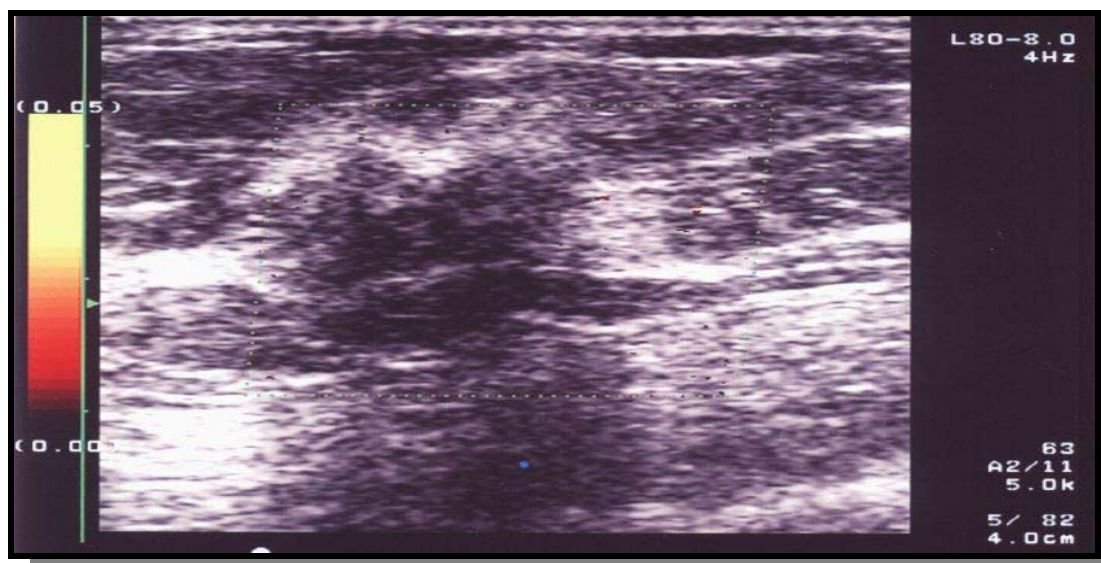


FIGURA 10 - Imagem de Tumor de mama, obtido com transdutor linear multifrequencial de 5 a 10 Mhz, com margens irregulares e sem vascularização (Classe 0).

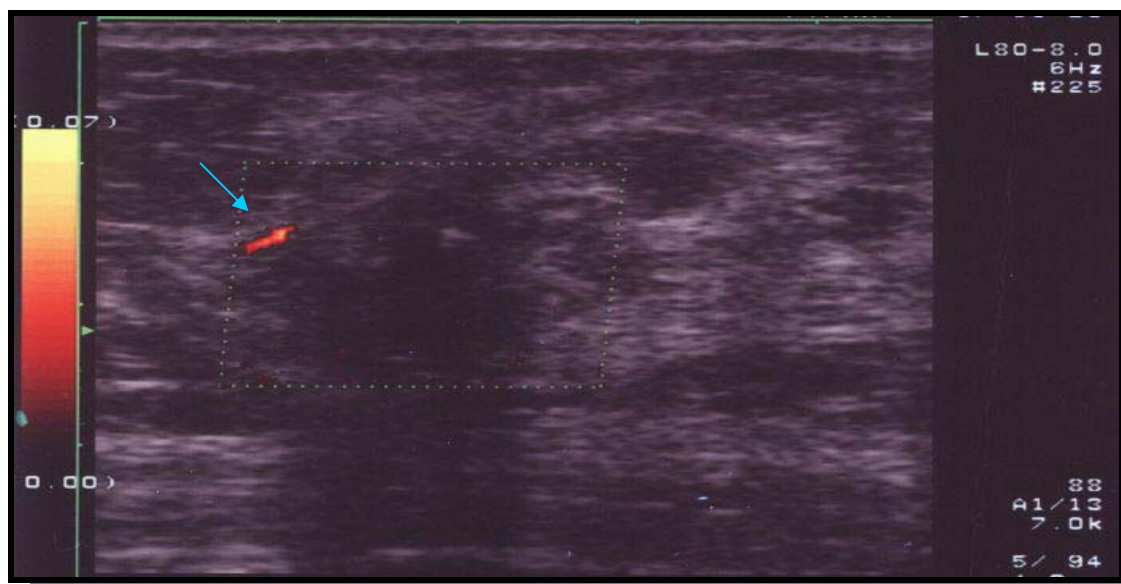


FIGURA 11 - Imagem de tumor de mama, obtido com transdutor linear multifrequencial de 5-10 Mhz, com margem irregular e com um ponto de vascularização (classe I).

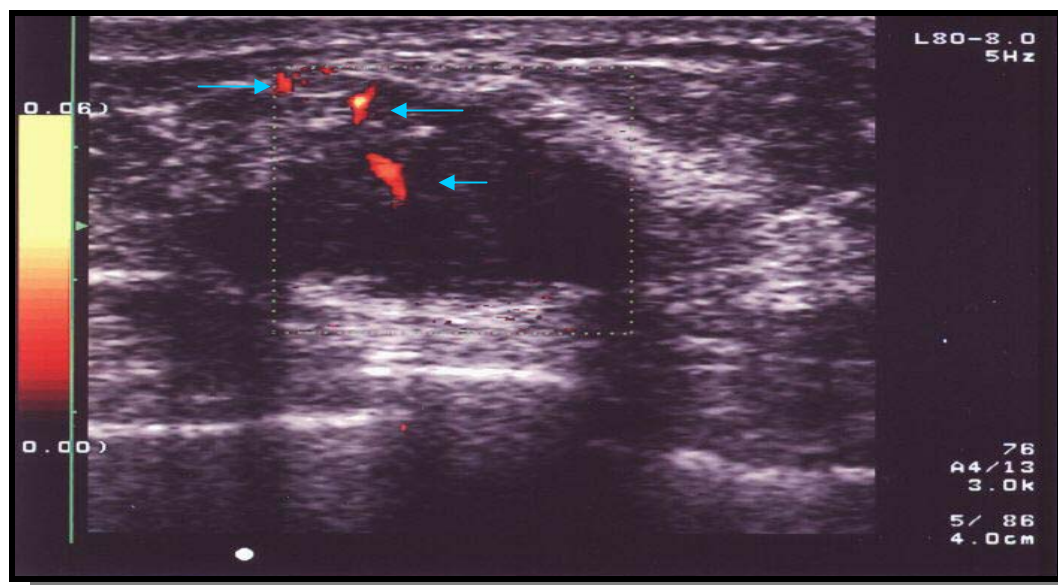


FIGURA 12 - Imagem de tumor, obtido com transdutor linear multifrequêncial de 5-10 Mhz, com margem irregular e com uma área colorida (classe II).

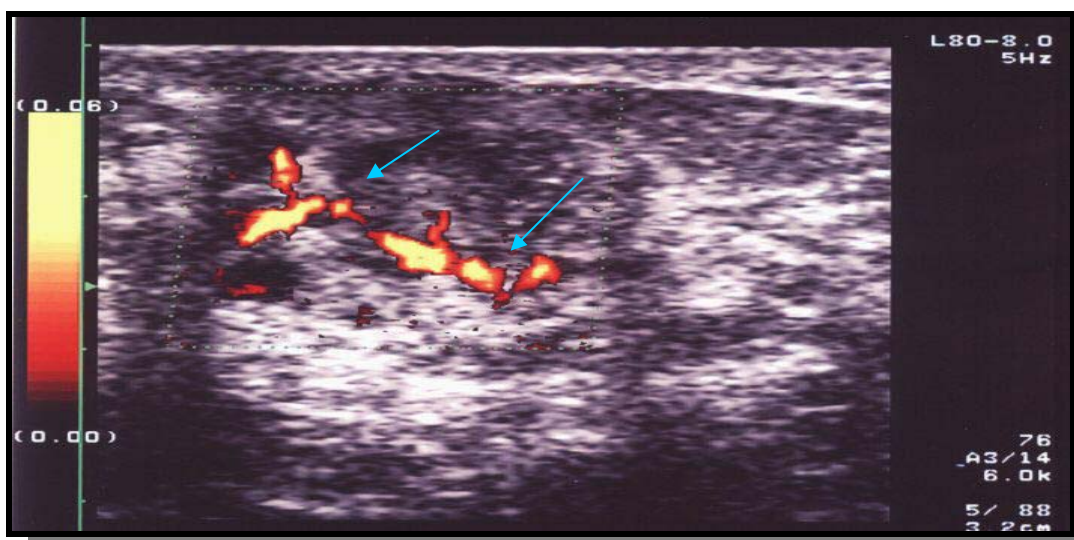


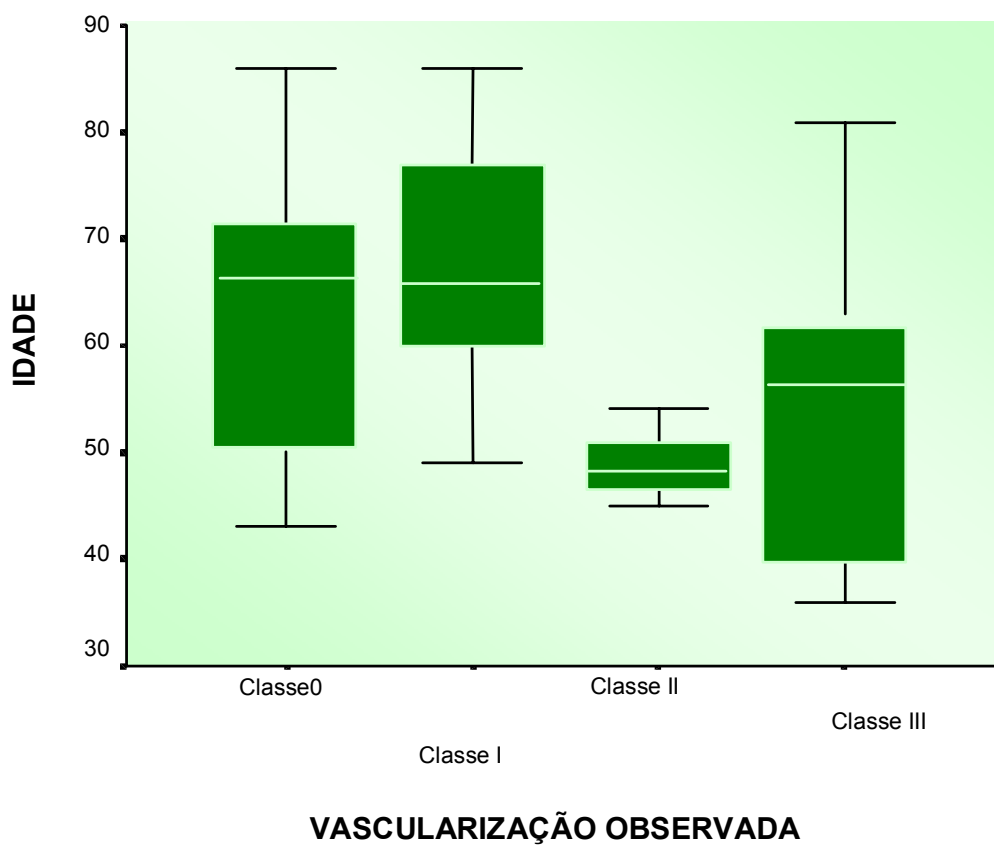
FIGURA 13 - Imagem do tumor, obtida com transdutor multifrequêncial de 5-10Mhz, com margem irregular e com várias áreas coloridas (classe III).

4.9. RELAÇÃO ENTRE A IDADE DAS PACIENTES E A VASCULARIZAÇÃO OBSERVADA AO POWER DOPPLER E AS RESPECTIVAS CLASSES

Nas pacientes com faixa etária mais elevada eram mais freqüentes as classes 0 e I do que as classes II e III observadas ao Power Doppler (Tabela 7 e Figura 14), no entanto, sem significância estatística. A curtose está ausente nas pacientes com classe II desta amostra, pois, existem apenas três indivíduos na amostra.

TABELA 7 - Relação entre a Idade das pacientes e a vascularização observada ao Power Doppler (PW).

Vascularização ao POWER DOPPLER	Média da idade	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Assimetria	Curtose
Classe 0	63,36	13,30	43,00	86,00	-0,12	-1,03
Classe I	67,50	12,49	49,00	86,00	0,34	-0,43
Classe II	49,00	4,58	45,00	54,00	0,94	-
Classe III	55,30	15,23	36,00	81,00	0,32	-0,92
Total	60,77	14,03	36,00	86,00	0,10	-0,89



p=0,109.

FIGURA 14 - Distribuição das pacientes quanto à idade e vascularização observada ao Power Doppler (PW) nas respectivas classes.

4.10. RELAÇÃO ENTRE O TAMANHO DO TUMOR E A VASCULARIZAÇÃO AO POWER DOPPLER

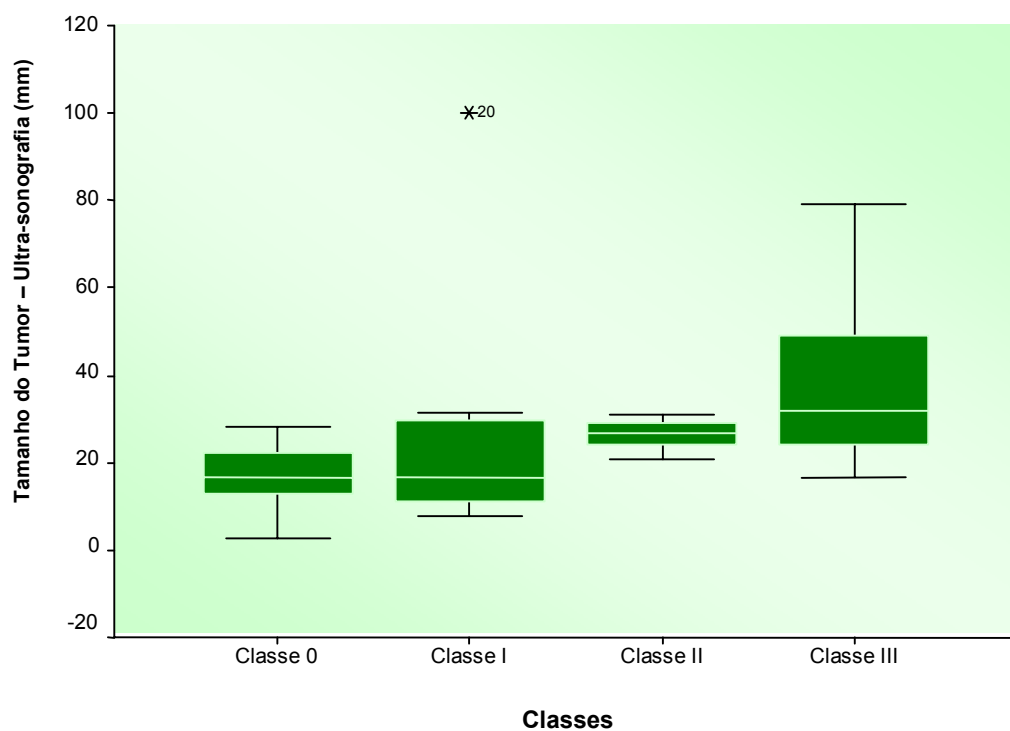
A menor média do tamanho do tumor foi observada nas pacientes com classe 0 ao Power Doppler, enquanto a maior média do tamanho do tumor foi observada nas pacientes da classe III, no entanto, sem significância estatística (Tabela 8 e Figura 15).

TABELA 8 - Medidas do tamanho do tumor, segundo Classes observadas ao Power Doppler.

Classes Power Doppler	Média do tamanho do tumor (mm)	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Assimetria	Curtose
Classe 0	17,029	6,8081	2,7	28,3	-0,196	0,219
Classe I	27,762	30,3733	8	100	2,421	6,218
Classe II	26,333	5,0332	21	31	-0,586	.
Classe III	37,52	19,3805	16,4	79	1,193	1,074

A medida da mediana das pacientes foi respectivamente maior na classe III>II>I>0, no entanto, não houve significância estatística.

Na relação da vascularização ao Power Doppler e separada em classes, com o tamanho do tumor (mm), a paciente n° 20 (100 mm) foi um ponto discrepante na amostra da classe I. As demais pacientes desta amostra tinham o tamanho do tumor entre 40 e 12 mm.



p = 0,114

FIGURA 15 - Distribuição quanto o tamanho do tumor mensurado na Ultra-sonografia em relação às classes da vascularização ao Power Doppler.

4.11. RELAÇÃO ENTRE A DENSIDADE VASCULAR DO TUMOR E A VASCULARIZAÇÃO OBSERVADA NO POWER DOPPLER.

Não foi demonstrada relação estatística significativa entre a vascularização ao Power Doppler e a Densidade Vascular do Tumor (Tabelas 9 e 10 e Figura 16).

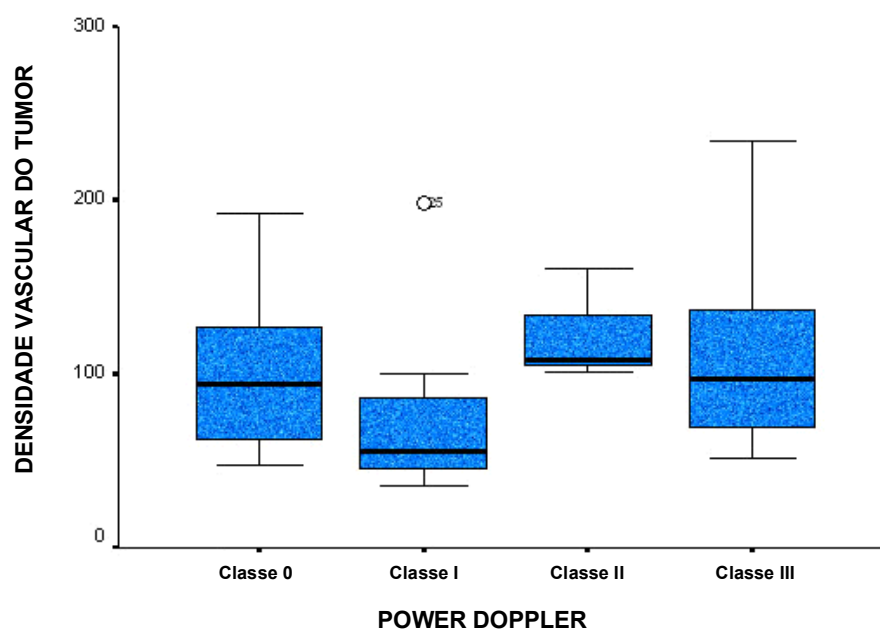
TABELA 9 - Médias da Densidade Vascular do Tumor (DVT), em valores absolutos, para cada classe, observadas no Power Doppler.

Classes Power Doppler	Média do valor absoluto da DVT	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Assimetria	Curtose
Classe 0	103,86	48,86	48,00	192,00	0,70	-0,80
Classe I	76,00	53,13	36,00	198,00	2,15	4,84
Classe II	123,00	32,23	101,00	160,00	1,64	-
Classe III	109,70	56,36	51,00	234,00	1,32	1,58

TABELA 10 - Distribuição das pacientes quanto às classes do Power Doppler e a classificação por grupos da Densidade Vascular do Tumor (DVT).

Grupo da DVT	Power Doppler				
	Classe 0	Classe I	Classe II	Classe III	Total
Grupo A	1	3	0	0	4
Grupo B	5	3	0	3	11
Grupo C	8	2	3	7	20
Total	14	8	3	10	35

A avaliação da mediana entre a vascularização observada ao Power Doppler e a Densidade Vascular do Tumor, não apresentou significância estatística. A paciente nº 25 destaca-se na amostra da classe I, pois a Densidade Vascular do Tumor foi de 198 vasos, sendo que no restante da classe foi menor 100 vasos.

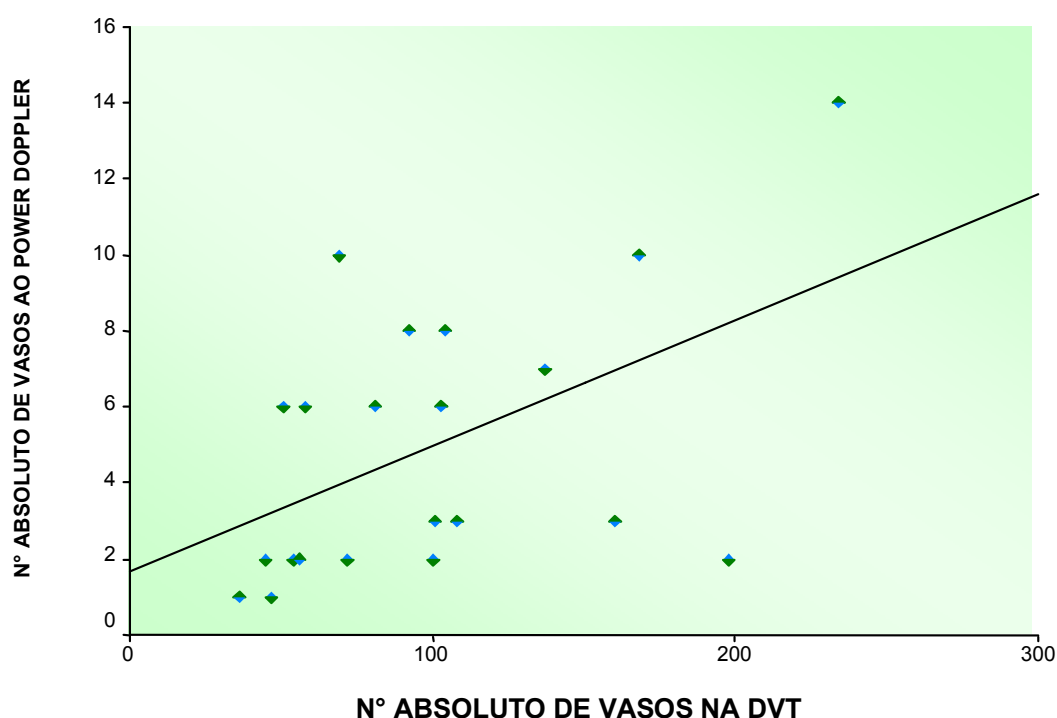


p=0,438

FIGURA 16 - Distribuição da Densidade Vascular do Tumor (DVT) em cada classe do Power Doppler.

4.12. RELAÇÃO ENTRE NÚMERO DE VASOS OBSERVADOS AO POWER DOPPLER E A DENSIDADE VASCULAR DO TUMOR.

Na Figura 17, foram analisados somente os vinte e um casos onde a vascularização estava presente, e observou-se uma moderada correlação entre o número absoluto de vasos presentes no Power Doppler e a Densidade Vascular do Tumor, com o coeficiente de correlação linear (r) igual a 0,50.



* $r=0,50$.

FIGURA 17 - Distribuição conjunta do número absoluto de vasos na Densidade Vascular do Tumor (DVT) e no Power Doppler (PW).

4.13. DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE VASCULAR DO TUMOR PELA IMUNOHISTOQUIMICA COM O ANTICORPO CD 34

As figuras 18 e 19 demonstram um campo com aumento de 400 vezes à microscopia óptica, recurso este utilizado na contagem de vasos corados pela técnica imuno-histoquímica com o anticorpo CD 34, para se determinar a Densidade Vascular do Tumor (DVT). Na figura 18 notar a presença de vasos com lúmen bem evidente e os bordos bem que foram considerados na determinação da Densidade Vascular do Tumor.

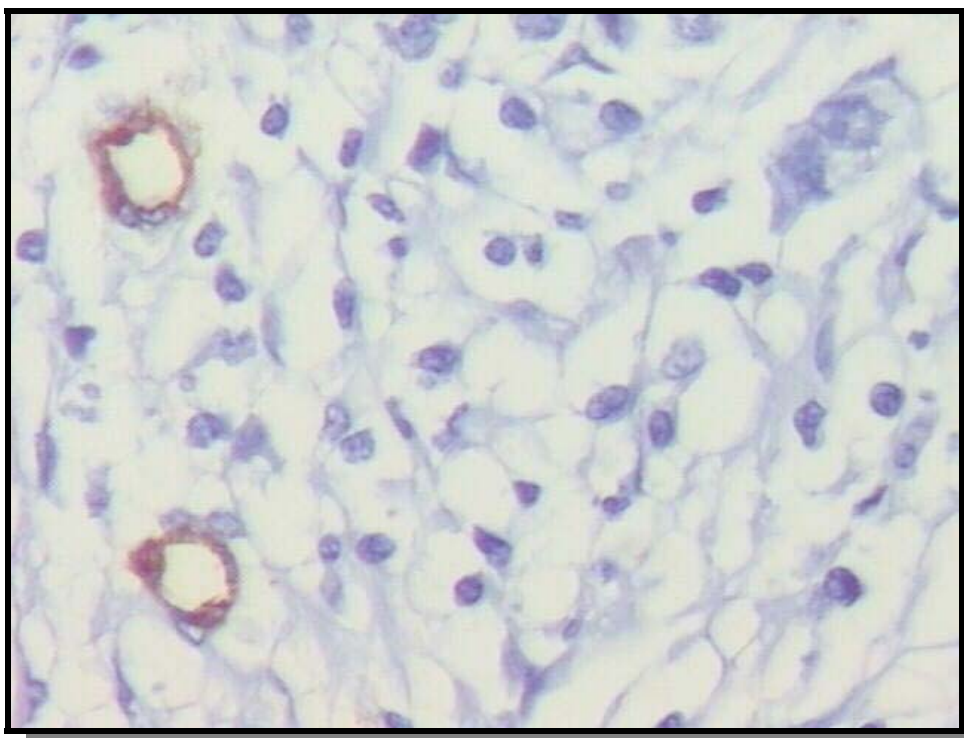


FIGURA 18 - Vasos corados por imunohistoquímica utilizando-se o anticorpo CD 34. No detalhe do lúmen vascular bem evidente (técnica APTS-400x).

Vasos sem o lúmen evidente, e sem bordas nítidas foram excluídos da contagem para a determinação da Densidade Vascular do Tumor (DVT).

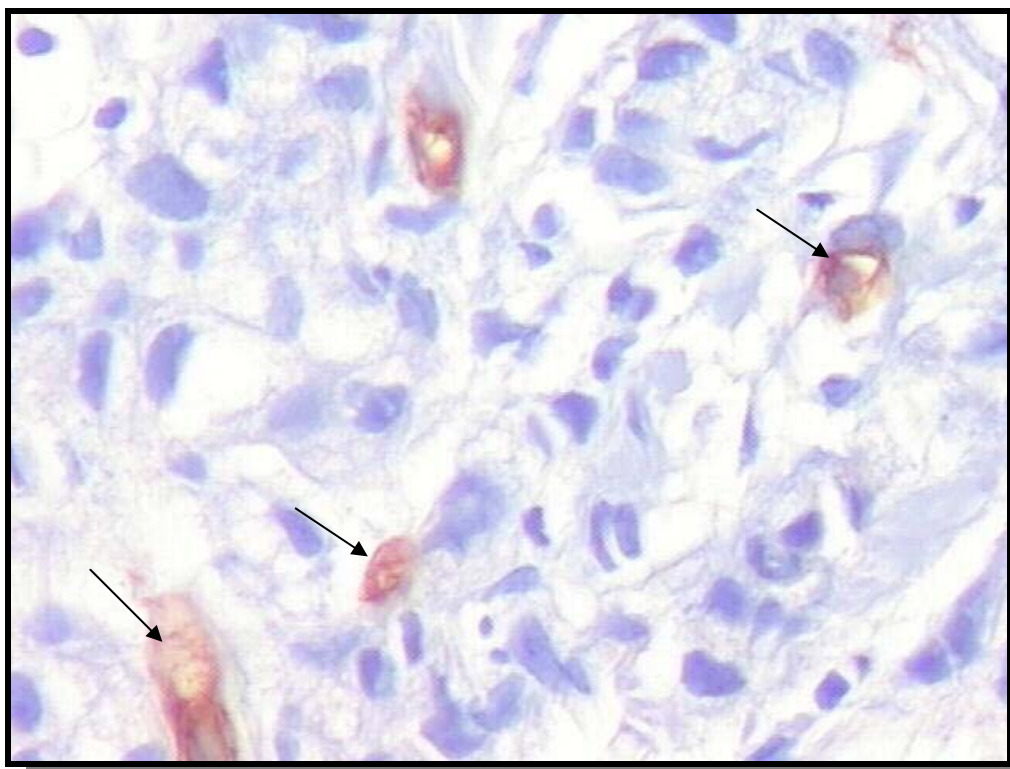


FIGURA 19 - Vasos corados sob imunohistoquímica utilizando-se o anticorpo CD 34. Observar em detalhe o lúmen vascular obstruído e os contornos pouco nítidos (técnica APTS-400x).



5. Discussão

5.3. DISCUSSÃO DA CASUÍSTICA E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Hospital Santa Marcelina do município de Itaquaquecetuba, localizado no extremo leste da grande São Paulo. Este Hospital atende além do município de Itaquaquecetuba, outras nove cidades, constituindo um importante pólo de difusão e promoção da saúde para a região.

Com o intuito de se estabelecer uma possível relação prognostica com a Densidade Vascular do Tumor, mas usando um método que permitisse esta análise de forma instantânea, simples e independente de intervenção cirúrgica, foi feita a proposição da possibilidade de se realizar este trabalho, desenvolvido junto a Disciplina de Mastologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (Unesp).

Entre março de 2002 a setembro de 2003, foram selecionadas trinta e cinco pacientes com câncer da mama, do ambulatório de Mastologia do Hospital Santa Marcelina de Itaquaquecetuba. Este número embora reduzido assemelha-se com as amostras estudadas em diversos trabalhos recentes da literatura que utilizaram uma casuística também pequena variando de vinte e nove pacientes (Sung-Wo et al., 2002) a trinta e seis pacientes (Hayashi et al.,

1998; Tozaki et al., 2000) entre outros. Apenas o trabalho de Sterns et al., 1996, apresentava uma casuística mais rica com duzentos e sete pacientes.

Antes do início do trabalho, foi realizado o levantamento bibliográfico, através da Med Line na Bireme e da Ovid em convênio com o Portal da Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu, sendo que foram encontrados apenas sete trabalhos na literatura médica internacional que estudava a relação entre o Color Doppler e o Power Doppler com a Densidade Vascular do Tumor, não sendo encontrada nenhuma linha de pesquisa semelhante, pertencente a qualquer estudo a nível nacional.

O estudo mais antigo relacionando o Color Doppler com os cânceres de mama foi de Crosgrave et al., 1991. A partir deste trabalho, inúmeros outros autores passaram a se interessar e publicar sobre o assunto. (Dixon et al., 1992; Holcombe et al., 1995; Peters-Engl et al., 1995).

Esta pesquisa foi realizada com o auxílio de dois colegas ultra-sonografistas de grande experiência na análise de imagens ultra-sonográficas mamárias, seguindo as recomendações propostas por Kook et al., 1999; Ösdemir et al., 2001; Reinikainen et al., 2001, aumentando assim a confiabilidade dos resultados obtidos.

Foram utilizados dois aparelhos ultra-sonográficos o ATL HDI 1500 (Advanced Technology Laboratories, Bothell, WA.) e o Toshiba 340 A (Toshiba Corp., Tóquio, Japão), ambos os aparelhos pertencem a mesma geração e tem a sensibilidade e acurácia semelhantes. Todas as pacientes foram examinadas nos dois aparelhos para verificar se o método era possível de ser reproduzido e os resultados tivessem semelhanças; em todos os casos obteve-se concordância de resultados, estando de acordo com o estudo de Lee et al., 1996, que também trabalharam com dois aparelhos (ATL HDI 1500 e Toshiba 240 A aparelho de geração inferior ao Toshiba 340 A).

Como técnica ultra-sonográfica tomou-se cuidado em não pressionar o tumor com força durante a análise do fluxo, pois os vasos neo-formados são pobres em camada muscular e assim susceptíveis ao colapamento quando pressionados.

Os parâmetros hemodinâmicos estudados com o Color Doppler foram a Velocidade Máxima do Pico Sistólico (V. max), Índice de Resistividade (I. R) e o Índice de Pulsatilidade (I.P). O quociente sístole diástole e a Velocidade Mínima no Final da Diástole (V min.) não foram analisados, pois os trabalhos consultados (Hayashi et al., 1998; Peters-Engl et al., 1998; Tozaki et al., 2000) descreveram somente a importância dos três primeiros parâmetros.

Várias classificações são propostas na literatura para a análise dos sinais vasculares demonstrados ao Power Doppler; no entanto, são de difícil reprodutibilidade, pois, possuem caráter subjetivo importante. Adotamos a classificação por pontos e áreas coloridas descritas por Sohn et al., 2000 e Sung-Wo et al., 2002. Embora, também, apresente caráter subjetivo, esta classificação permite uma melhor percepção da ausência, da presença de um ponto, da área restrita ou da extensa vascularização, sendo assim mais objetiva e de melhor reprodutibilidade.

Todos os casos foram fotografados para a eventual re-análise e re-avaliação de classes, a fim de diminuirmos eventuais falhas de classificação, entretanto, não houve necessidade de realizarmos esses procedimentos.

A análise anatomopatológica e imunohistoquímica, de todos os trinta e cinco casos, foi feita pelo mesmo patologista, assim não criando contradições que pudessem prejudicar os resultados devido a subjetividade inerente ao método.

Todos os cortes foram corados no mesmo período e a leitura realizada no mesmo dia após o terminado o processo de coloração, seguindo a metodologia recomendada por Weidner et al., 1991, evitando-se as diferenças cromáticas que poderiam advir caso as lâminas fossem

coradas em períodos diferentes, o que certamente prejudicaria a leitura e interpretação das lâminas.

Utilizamos o anticorpo CD 34 para a coloração imunohistoquímica, devido a grande afinidade com o endotélio dos vasos pouco diferenciados conforme observado por Nakayama et al., 2001. Foram considerados apenas os vasos com o lúmen e as bordas bem evidentes, pois como se sabe o CD 34 também pode colorir algumas células tumorais, fibroblastos do estroma e células inflamatórias.

O escore por grupos proposto por Gunel et al., 2002, foi adotado, visto que classificava os tumores em três grupos baseado no número exato de vasos contidos no tumor.

Foi realizada análise descritiva dos dados em separados, e distribuída às amostras com respectivas frequências e porcentagens. Em seguida realizou-se a análise inferencial destes dados, e nesta etapa, foram considerados os parâmetros numéricos, estudando sua associação com as variáveis de natureza categórica. Foi empregado o teste t de Student para amostras independentes, quando se tratava de variáveis com duas categorias.

A análise de variância foi empregada quando havia um fator fixo e mais de duas categorias na variável em questão, foi determinada a média, e depois os respectivos desvios-padrão, com a

finalidade de avaliar a variabilidade de um indivíduo para outro e se tendiam à centralização (homogeneidade) ou a dispersão (heterogeneidade). A assimetria e a curtose foram relacionadas para ver se os dados seguiam uma distribuição normal (caso se localizasse entre +3 e -3).

Conceitua-se curtose como a esperança do quarto indivíduo e é o fator responsável pelo “achatamento” da curva de Gauss.

Utilizou-se o gráfico de Bland-Altman para comparar as medidas do tumor obtidas em ultra-sonografia e ao exame de anátomo patológico.

Para a correlação do valor absoluto da Densidade Vascular do Tumor com o número de vasos visíveis à Ultra-sonografia, foi utilizado o diagrama de dispersão e a regressão linear.

5.4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.2.1. VASCULARIZAÇÃO AO COLOR DOPPLER E POWER DOPPLER COM O TAMANHO DO TUMOR

Das trinta e cinco pacientes estudadas, a vascularização observada na ultra-sonografia esteve presente em vinte e uma pacientes, e ausente em quatorze pacientes. Em sessenta e sete por cento dos tumores com vascularização visível os tumores eram maiores que 20 milímetros (TABELA 3). Em tumores menores que 20 milímetros a vascularização esteve ausente em 71,5% da amostra (TABELA 2). O tamanho de vinte milímetros como valor de corte foi adotado, seguindo a classificação TNM.

Em nosso trabalho a média do tamanho do tumor apresentou uma relação diretamente proporcional com as classes do Power Doppler; assim quanto maior o tumor, maior a vascularização observada ao Power Doppler (TABELA 8, FIGURA 15). Nossos dados estão de acordo com os relatados por Yang et al., 2002, que observaram em tumores maiores que 20 mm um acréscimo de 2,5 vezes no número de vasos visíveis ao ultra-som. Portanto quanto maior o tamanho do tumor maior possibilidade do aparecimento de vasos ao exame ultra-sonográfico, o que estaria correto, pois quanto maior a vascularização maior a possibilidade do tumor crescer.

5.2.2. VASCULARIZAÇÃO VISTA AO POWER DOPPLER E A IDADE

A média de idade de nossas pacientes foi de 65,11 anos, com idade mínima de 36 anos e a máxima de 86 anos (TABELA 1).

Nas pacientes que não apresentavam vascularização visível, ou havia pouco sinal vascular (classes 0 e I do Power Doppler) a média de idade era de sessenta e três anos, e nas classes II e III do Power Doppler a média de idade estava abaixo de cinquenta e cinco anos (TABELA 7, FIGURA 14). Bhatti et al., 2001, encontraram evidências que a idade das pacientes poderia ter influência na vascularização de tumores malignos da mama observada em ultra-sonografia e que a densidade vascular decrescia com o avanço da idade. Nossos dados, também, mostraram que a vascularização do tumor apresenta tendência A decrescer com o aumento da idade. Provavelmente isto estaria de acordo com a observação que em pacientes mais idosas o comportamento biológico do tumor tende a ser menos agressivo do que em pacientes mais jovens.

5.2.3. MEDIDA DO TUMOR PELA ULTRA-SONOGRAFIA EM COMPARAÇÃO COM A AFERIÇÃO PELA ANATOMIAPATOLÓGICA

Yang et al., 1997, estudaram trinta e nove cânceres sólidos de mama e compararam as medidas pré-operatórias utilizando três métodos: mamografia, ultra-sonografia e ressonância magnética com as obtidas no pós-operatório pelo exame anatomopatológico. A mamografia não apresentou acurácia para aferição, enquanto a ultra-sonografia e a ressonância magnética apresentavam resultados semelhantes. A facilidade no manuseio, apresentação dos resultados em tempo real e o baixo custo operacional, tornava a ultra-sonografia o melhor método de escolha para a aferição do tamanho do tumor durante a fase pré-cirúrgica.

A média do tamanho do tumor mensurada pela ultra-sonografia nos trinta e cinco casos foi de 26,14 mm e na anatomia patológica de 26,74mm (TABELA 4). Em apenas três pacientes foram notadas discrepâncias nas medidas do tumor (FIGURA 3). No gráfico de Bland-Altman (FIGURA 4) para a correlação interclasse, observou-se uma boa concordância entre os métodos, entretanto a paciente número 20 foi excluída da comparação dos dados, por ter sido considerado um ponto aberrante, pois, o tamanho medido ao ultra-som foi de 100 mm e na Anatomia patológica foi de 40 mm. Isto poderia ter ocorrido pela existência de processo inflamatório com edema ao redor do tumor podendo de certa forma alterar as medidas ultra-sonográficas do tumor, fato este observado também por Vignal et al., 2002.

5.2.4. PARÂMETROS HEMODINÂMICOS MEDIDOS PELO COLOR DOPPLER E DENSIDADE VASCULAR DO TUMOR

5.2.4.1. Velocidade Máxima do Pico Sistólico

A média da Velocidade Máxima do Pico Sistólico em centímetros por segundo (V max), foi de 18,70, 11,26 e 11,63 cm/seg. nas pacientes dos grupos C, B e A da Densidade Vascular do Tumor, respectivamente (TABELA 5, FIGURA 7), no entanto sem significância estatística. Peters-Engl et al., 1998, não encontraram correlação da V max com a Densidade Vascular do Tumor, por outro lado Tozaki et al., 2000, observaram V max de 28 cm/s nas pacientes com maior Densidade Vascular e de 11 cm/s nas com menor Densidade Vascular do Tumor. Estes dados estão de acordo com os nossos resultados. Acreditamos que o fato da média da V max ser maior em tumores de maior Densidade Vascular do Tumor, possivelmente, seja decorrente da presença de maior número de anastomoses aberrantes entre os vasos neo formados e ao fato de que a camada muscular destes vasos são rudimentares.

5.2.4.2. Índice de Resistividade

A média do Índice de Resistividade encontrado foi maior nas pacientes do Grupo A 0,88 e com menor valor nas dos Grupos B e C 0,81 e 0,78 respectivamente (TABELA 5, FIGURA 8), entretanto não tivemos significância estatística ($p=0,532$), Tozaki et al., 2000, não encontraram diferenças quanto ao Índice de Resistividade entre os tumores com a Densidade Vascular do Tumor maior que 100 e os menores que este valor (0,83 e 0,80; respectivamente).

Nossos resultados são discordantes com os achados de Tozaki et al., 2000, pois o I. R foi maior em pacientes com menor Densidade Vascular do Tumor. Nos creditamos esse resultado ao fato dos vasos neo-formados apresentarem uma camada muscular fina, e até mesmo ausente em determinados segmentos; resultando nas formas bizarras destes vasos, onde há segmentos dilatados mesclados a áreas de estenose, a o leito endotelial anormal, além da presença de ligações aberrantes inter-arteriolares e inter-arteriolo-venoso (Wilkens et al., 1998; Fidler et al., 2001). Em nosso ponto de vista tais características acarretam um aumento do Índice de Resistividade em tumores com menor Densidade Vascular do Tumor, pois, quanto menor à Densidade Vascular, mais curto será o trajeto dos vasos, fato que acarretaria em um significativo aumento da resistência ao fluxo sanguíneo, levando a o aumento da média encontrada. Portanto, o resultado que encontramos talvez reflita melhor a Densidade Vascular do Tumor.

5.2.4.3. Índice de Pulsatilidade

A média do Índice de Pulsatilidade (I. P) foi 2,03 nas pacientes do Grupo A, 1,67 no Grupo B e 1,66 no Grupo C (TABELA 5 ,FIGURA 9), sem significância estatística ($p=0,279$). Vimos que o I.P foi maior nas pacientes com menor Densidade Vascular do Tumor, apesar de Tozaki et al., 2000, não terem encontrado diferenças no I.P entre as pacientes com Densidade Vascular do Tumor maior que 100 e as menores que este valor. Acreditamos que o I.P deverá ser maior nos tumores que apresentam menor Densidade Vascular, pois como a Velocidade Máxima no Pico Sistólico é componente da fórmula para o cálculo do Índice de Pulsatilidade e se apresenta inversamente proporcional a o Índice de Pulsatilidade, quanto menor a Velocidade Máxima no Pico Sistólico maior será o Í.P, portanto, como verificamos anteriormente, quanto menos Densidade Vascular do Tumor, menor a Velocidade Máxima no Pico Sistólico e assim, maior será o I.P.

5.2.5. VASCULARIZAÇÃO AO POWER DOPPLER E DENSIDADE VASCULAR DO TUMOR

A média do valor absoluto da Densidade Vascular do Tumor foi de 103,86; 76,00; 123,00 e 109,00 vasos respectivamente nas classes 0, I, II e III do Power Doppler (TABELA 9) sem significância estatística. Na associação entre os Grupos da Densidade Vascular do Tumor e as classes do Power Doppler (TABELA 10) houve uma distribuição aleatória sem demonstrar nenhuma relação escalonada entre elas. Portanto não demonstramos correlação entre a vascularização observada no Power Doppler com a Densidade Vascular do Tumor verificada no exame anatomopatológico. Mesmo quando não era observada vascularização ao Power Doppler existia a formações vasculares ao exame anátomopatológico.

Yang et al., 2002, afirmaram que a sensibilidade do Power Doppler era de três a cinco vezes maior que o Color Doppler. Neste trabalho eles utilizaram o aparelho HDI 3000, portanto uma geração à frente dos aparelhos por nós utilizados, e conseguiram estabelecer que em lesões malignas os vasos eram em maior número. Houve também uma relação de proporcionalidade entre a Densidade Vascular ao exame anatomopatológico com o obtido pelo Power Doppler. Outra tentativa de aprimorar a relação de vasos observados ao exame de Power Doppler com a correspondência ao exame anatomopatológico seria a introdução

de contraste na realização do Power Doppler. Sung-Won et al., 2002, utilizando o aparelho (HDI 3000), com introdução de contraste (Levovist®) no exame, notaram que quanto maior a Densidade Vascular, maior era o número de vasos encontrados no Power Doppler. No entanto, alguns autores, como Yang et al., 2002 e Reinikainen et al., 2002, não demonstraram evidências de que o uso de contraste aumentava a correlação entre o número de vasos visíveis no Power Doppler com o exame anatomopatológico nas lesões malignas.

Os nossos resultados não demonstraram a relação do número de vasos visíveis ao Power Doppler com a Densidade Vascular do Tumor ao exame anatomopatológico. Não podemos afirmar, mas possivelmente com a utilização de aparelhos com melhor resolução e talvez com o uso de contraste, esta correlação poderá ficar mais evidente.

5.2.6. RELAÇÃO ENTRE O NÚMERO DE VASOS OBSERVADOS AO POWER DOPPLER E A ANATOMIA PATOLÓGICA

Excluindo-se os quatorze casos onde a vascularização estava ausente na análise com o Power Doppler e levando-se em conta somente os casos onde se visualizavam os vasos, notamos uma correlação com o número de vasos observados na Densidade Vascular do Tumor obtida no exame anatomopatológico. Empregando-se o coeficiente de correlação linear (FIGURA 17), para se estabelecer uma

relação entre o número absoluto na contagem de vasos ao Power Doppler e o número absoluto de vasos na Densidade Vascular do Tumor, notou-se, uma correlação moderada (0,50) entre os dois métodos. Este dado está de acordo com o que foi descrito no trabalho de Sung-Wo et al., 2002, que justificaram que os métodos apresentavam esta relação entre si, por se tratarem de análises semiquantitativas.

Portanto, se tivesse sido possível visualizar os vasos neoformados em todos os exames ultra-sonográficos com o Power Doppler nos tumores estudados, poderíamos ter tido uma correlação mais evidente entre a ultra-sonografia e o exame anatomopatológico em relação aos vasos neoformados.



6. Conclusões

Os dados obtidos em nosso estudo, permitem-nos às seguintes conclusões:

1) Não houve correlação entre o número de vasos obtidos pela ultra-sonografia com os recursos de Color Doppler e Power Doppler e a Densidade Vascular do Tumor ao exame anatomopatológico.

2) Quando se considerou somente os casos onde a vascularização foi observada, houve uma tendência à correlação entre os parâmetros hemodinâmicos ao Color Doppler e em número de vasos ao Power Doppler, com aquele obtido na análise da Densidade Vascular do Tumor ao exame anatomopatológico.

3) A utilização de aparelhos com melhor resolução e o uso de contraste, provavelmente, no futuro, possibilitarão uma correlação mais evidente entre a visualização dos vasos Collor Doppler e Power Doppler com a Densidade Vascular do Tumor ao exame anatomopatológico.



7. Referências Bibliográficas

ABREU,E., KOIFMAN,S. Fatores prognósticos no câncer da mama feminina. **Rev Bras Cancerol**, v. 41, p. 113-131, 2002.

ALTMAN,D.G. **Pratical statistics for medical research**. Londres: Charpman & Hall, 1997. p.1-793.

AXELSSON,K. LJUNG,B.M.E., MOORE II,D.H., THOR,A.D., CHEW,K.L., EDGERTON,S.M., SMITH,H.S., MAYALL,B.H. Tumor angiogenesis as a prognostic assay for invasive ductal breast carcinoma. **J Natl Cancer Inst**, v.87, p.997-1008, 1995.

BHATTI,P.T., LeCARPENTIER,G.L., ROUBIDOUX,M.A., FOLWLKES,J.B., HELVIE,M.A., CARSON,P.L. Discrimination of sonographically detected breast masses using frequency shift color Doppler imaging in combination with age and gray scale criteria. **J. Ultrasound Med.**, v.20, p. 343-350, 2001.

BRAVO,R.S. Ultra-sonografia das mamas. In VASQUES, F.A.P. **Manual prático de ultra- sonografia em obstetrícia e ginecologia**. São Paulo: BYK, 1997. cap.28, p.132-135.

BURNS,P.N. Contrast agents for ultrasound imaging and Doppler. In: RUMACK, C.M., WILSON, S.R., CHARBONEAU, J.W. **Diagnostic ultrasound**. 2.ed. Saint Louis: Mosby, 1998. p.57-84.

CAMARGO Jr,H.S.A., CAMARGO,M.M.A. Ultra-sonografia mamária revisitada: Muito mais que diferenciar nódulos císticos de sólidos. **Femina**, v.31, p.349-53, 2003.

CROSGROVE, D.O., KEDAR, R.P., BAMBER, J.C. Breast diseases. Color Doppler US in differential diagnosis. **Radiology**, v.189, p. 99-106, 1991.

DIXON,J.M., WALSH,J., PATERSON,D., CHETTY,U. Color Doppler ultrasonography studies of benign and malignant breast lesions. **Br J Surg**, v. 79, p.259-260, 1992.

DORIA FILHO, O. **Introdução à Bioestatística: para simples mortais**. 3 ed. São Paulo: Negócios, 1999. p. 9-158.

DUFFY, S.W. TABÁR, L., CHEN, H. H., HOLMQUVIST, M., YEN, M. F., ABDSALAH, S., EPSTEIN, B., FRODIS, E., LJUNGBERG, E., HOLMBERG, L. The Impact of organized mammography service screening on breast carcinoma mortality in seven Swedish counties. **Cancer**, v.95, p.458-469,2002.

FARIDI, A., RUDLOWSKI, C., BIESTERFELD, S., SCHUH, S. RATH, W., SCHRÖDER, W. Long-term follow-up and prognostic significance of angiogenic basic fibroblast growth factor (bFGF) expresion in patients with breast cancer. **Pathol. Res. Pract.** v.198, p.1-5, 2002.

FEIG,S.A. Effect of service screening mammography on population mortality from breast carcinoma. **Cancer**, v. 95, p.451-459, 2002.

FELD, R. I., ROSENBERG, A. L., NAZARIAN, L. N., NEEDLEMAN, L., LEV-TOAFF, A. S., SEGAL, S. R., JOHNSON, P. T., PARKER, L., O'REILLY, T. Intraoperative sonographic localization of breast masses. **J. Ultrasound Med.**, v.20, p.959-966, 2001.

FILDLER,I.J, KERBEL,R.S, ELLIS,L.M. Biology of cancer: angiogenesis. In: DeVITA Jr, V.T., HELLMAN, S., ROSENBERG, S.A. **Cancer: principles and practice of oncology**. 6.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. p. 137-145.

FLEISCHER,A.C., WOJCICKI,W.E., DONNELLY,E.F., PICKENS,D.R., THIRSK,M.I., THURMAN,G.B., HELLERQVIST,C.G. Quantified Color Doppler sonography of tumor vascularity in an animal model. **J. Ultrasound Med.**, v.18, p. 547-551, 1999.

FOLKMAN,J. Angiogenesis in breast cancer, IN: BLAND, K.I., COPELAND, E.M. **The Breast Comprehensive Management of Benign and Malignant Diseases**. 2.ed.Philadelphia: W.B.Saunders Company, 1998, vol. 1, cap. 30, p. 586-603.

FRIDMAN, V. et al. Assesment of tumor amgiogenesis in invasive breast carcinomas: absence of correlation with prognosis and pathological factors. ***Virchows Arch.***, v.437, p.611-17,2000.

GUNEL,N., AKCALI,Z., COSKUN,U., AKYOL,G., YAMAC,D., YENIDÜNYA,S. Prognostic importance of tumor angiogenesis in breast carcinoma with adjuvant chemotherapy. ***Pathol. Res. Pract.***, v.198, p.7-12, 2002.

HARRIS,J.A., LIPPMAN,M.E., VERONESI,U., WILLETT,W. Breast cancer: first of three parts. ***The New England Journal of Medicine***, v.327(5), p.319-28,1992.

HARVEY,J.A. Sonografic features of mammary oil cysts. ***J. Utrasound Med.***, v. 16, p.719-24, 1997.

HAYASHI,N., MIYAMOTO,Y., NAKATA,N., IRIE,T., IKEGAMI,M., ASAO,K., TADA,S. Breast masses: Color Doppler, Power Doppler, and Spectral analysis findings. ***Journal of Clinical Ultrasound***, v.26(5), p.231-8, 1998.

HENDERSON,I.C. Risk factors for breast cancer development. ***Cancer***, v.71, p.2127-2140, 1993.

HEYWANG-KÖBRUNNER,S.H., SCHEER,I. DERSHAW,D.D., FRASSON,A. Ultra-sonografia. In:____. **Mama diagnóstico por imagem**. São Paulo:Revinter, 1999. cap.4, p.81-91.

HOLCOMBE,C., PUGH,N., LYONS,K., DOUGLAS-JONES,A., MANSEL,R.E., HORGAN,K.. Blood flow in breast câncer and fibroadenoma estimated by colour Doppler ultrasonography. **Br J Surg**, v.82, p.787-488, 1995.

JARDINES,L., BERGER,D. Integration of molecular biology into prognostic parameters for breast carcinoma. In: BLAND, K.I., COPELAND, E.M. **The breast comprehensive management of benign and malignant diseases**. 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1998. v.1, cap. 24, p. 435-457.

KEMP,C., PETTI,D.A., QUADROS,L.G.O., SABBAGA,J., GEBRIM,L.M., RICCI,M.D. Câncer de Mama-Prevenção Primária, 2002. Rio de Janeiro. Disponível em:<[http:// www.febrasgo.org.br/. Diretrizes.htm](http://www.febrasgo.org.br/Diretrizes.htm)> Acesso em: 08 nov 2002.

KEMP,C., PETTI,D.S., FERRARO,O., ELIAS,S. Câncer de Mama-Prevenção Secundária, 2002. Rio de Janeiro. Disponível em:<[http:// www.febrasgo.org.br/. Diretrizes. Htm](http://www.febrasgo.org.br/Diretrizes.Htm)> Acesso em: 08 de novembro de 2002.

KLIGERMAN,J. Estimativas sobre a mortalidade por câncer no Brasil. **Rev Bras Cancerol**, v.48, p.175-179, 2002.

KOOK,S.H., PARK,H.W., LEE,Y.R., LEE,Y.U., PAE,W.K., PARK,Y.L.
Evaluation of solid breast lesion with Power Doppler sonography. **J Clin
Ultrasound**, v.27, p.231-237, 1999.

KUO,W.J., CHANG,R.F., CHEN,D.R., LEE,C.C. Data mining with decision
trees for diagnosis of breast tumor in medical ultrasonic images. **Breast
Cancer Res Treat**, v. 66, p.51-57, 2001.

LEE,W.J., CHU,J.S., HUANG,C.S., CHANG,M.F., CHEN,K.M. Breast
cancer vascularity: color Doppler sonography and histopathology study.
Breast Cancer Res Treat, v.37, p.291-298, 1996.

LINS,R.M., SILVA,H.M.S. Doppler colorido na propedêutica da mama. In:
DIAS, E.N. **Controversias em mastologia**. 2.ed. Rio de Janeiro:
Revinter, 1998. p.57-64.

LUCENA, C.E.M. Cistos mamários. **Femina**, v.31, p.143-146, 2003.

MADJAR,H. Princípios básicos da ultra-sonografia mamária. In:____.
Ultra-sonografia da mama. Rio de Janeiro: Revinter, 2003. p.2-27.

MADJAR,H. Ultra-sonografia com Doppler. In:____. **Ultra-sonografia da
mama**. Rio de Janeiro: Revinter, 2003. p.233-244.

MARTINS,M.S., SOUZA,G.A., DERCHAIN,S.F.M., ROTELI-MARTINS,C.M., TADINI,V. Avaliação da resposta do câncer de mama à quimioterapia: papel da ultra-sonografia e da Dopplerfluxometria. **RBGO**, v.24, p.447-52, 2002.

MASSENGALE,J.C. Use of ultrasound in breast disease. **Ultrasound Q**, v.18, p.149-159, 2002.

MEHTA,T.S., RAZA,S. Power Doppler sonography of breast cancer: does vascularity correlate with node status or lymphatic vascular invasion. **Am. J. Roentgenol.**, v.173, p.303-307, 1999.

MEHTA,T.S., RAZA,S., BAUM,J. Use of Doppler Ultrasound in the evaluation of breast carcinoma. **Semin Ultrasound CT MR**, v.21, p.297-307, 2000.

MENDELSON,E.B. The breast. In: RUMACK, C.M., WILSON, S.R., CHARBONEAU, J.W. **Diagnostic ultrasound**. 2.ed. Saint Louis: Mosby, 1998. p.751-89.

MERRITT,C.R.B. Physics of ultrasound. In: RUMACK, C.M., WILSON, S.R., CHARBONEAU, J.W. **Diagnostic ultrasound**. 2.ed. Saint Louis: Mosby, 1998. p.3-33.

BRASIL, Ministério da Saúde. ***Incidência de câncer no município de São Paulo***: Brasil 1983-1988-1993: tendência no período 1969-1993. São Paulo: Fundação Oncocentro, 1999. p. 1-44.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde, Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Programas de Controle de Câncer. ***Tumores da mama***. In: __. TNM, classificação dos tumores malignos. 4. ed. Rio de Janeiro: INCA, 1995. p.58-62.

NAKAYAMA,K. Different features of angiogenesis between ovarian and breast carcinoma. ***Cancer Lett***, v.170, p.161-67, 2001.

OSANAI,T., WAKITA,T., GOMI,N., TAKENAKA,S., KAKIMOTO,M., SUGIHARA,K. Correlation among intratumoral blood flow in breast câncer, clinicopathological findings and Nottingham Prognostic Index. ***Jpn J Clin Oncol***, v.33, p14-16, 2003.

ÖZDEMİR,A., ÖZDEMİR,H., MARAL,I., KONUS,Ö., YÜCEL,S., ISIK,S. Differential diagnosis of solid breast lesions: Contribution of Doppler studies to mammography and gray scale imaging. ***J. Ultrasound Med.***, v.20, p.1091-1101, 2001.

PETERS-ENGL,C., MEDLI,M., LEODOLTER,S. The use of colour – coded and spectral Doppler ultrasound in the differentiation of benign and malignant breast lesions. ***Br J Cancer***, v.71, p.137-9, 1995.

PETERS-ENGL,C., MEDL,M., MIRAU,M., WANNER,C., BILGI,S., SEVELDA,P., OBERMAIR,A. Color – coded and spectral Doppler flow in breast carcinomas – Relationship with the tumor microvasculature. **Breast Cancer Res Treat**, v.47, p.83-9, 1998.

PETERS-ENGL,C., FRANK,W., LEODOLTER,S., MEDL,M. Tumor flow in malignant breast tumors measured by Doppler ultrasound: an independent predictor of survival. **Breast Cancer Res Treat**, v.54, p.65-71, 1999.

REINIKAINEN,H., RISSANEN,T., PÄIVÄNSALO,M., PÄÄKKÖ,E., JAUHIAINEN,J., SURAMO,I. B-mode, Power-Doppler and contrast-enhanced Power Doppler ultrasonography in the diagnosis of breast tumors. **Acta Radiol**, v.42, p. 106-113, 2001.

REINIKAINEN,H., PÄÄKKÖ,E., PÄIVÄNSALO,M., JAUHIAINEN,J., RISSANEN,T. Dynamics of contrast enhancement in MR imaging and Power Doppler ultrasonography of solid breast lesions. **Acta Radiol**, v.43, p.492-500, 2002.

SCHEIDEN,R., SAND,J., CAPESIUS,C., WAGENER,C., WAGNON,M.C., KNOLLE,U., FAVERLY,D. Consequences of a national mammography screening program on diagnostic procedures and tumor sizes in breast cancer. **Pathol. Res. Pract.**, v.197, p. 467-474, 2001.

SCHINITT,S.J. The real value of angiogenesis research in breast cancer. **Adv Anat Pathol**, v.4, p.23-27, 2002.

SCHOOJANS,J.M., BREM,R.F. Fourteen-gauge ultrasonographically guided large-core needle biopsy of breast masses. **J. Ultrasound Med.**, v.20, p. 967-972, 2001.

SHETTY,M.K., SHAH,Y.P. Prospective evaluation of the value of negative sonographic and mammographic findings in patients with palpable abnormalities of the breast. **J. Ultrasound Med.**, v. 21, p.1211-1216, 2002.

SMITH,D.N., DARLING,M.L.R., MEYER,J.E., DENISON,C.M., ROSE,D.I., LESTER,S., RICHARDSON,A., KAE LIN,C., RHEI,E., CRISTIAN,R.L. The utility of ultrasonographically guided large-core needle biopsy. **J. Ultrasound Med.**, v. 20, p.43-49, 2001.

SOHN,C., HAMPER,U.M., BLOHMER,J.U. Histórico da ultra-sonografia mamária. In: _____. **Ultra-sonografia da mama. Uma abordagem sistemática da técnica e interpretação da imagem.** 1. Rio de Janeiro: Revinter, 2000a., p. 1-3.

SOHN,C., HAMPER,U.M., BLOHMER,J.U. Princípios técnicos básicos da ultra-sonografia mamária. In:_____. **Ultra-sonografia da mama. Uma abordagem sistemática da técnica e interpretação da imagem.** 1. Rio de Janeiro: Revinter, 2000b. p.4-18.

SOHN,C., HAMPER,U.M., BLOHMER,J. U. Ultra-sonografia no “follow up” de câncer de mama. In:____. **Ultra-sonografia da mama.Uma abordagem sistemática da técnica e interpretação da imagem.** 1. Rio de Janeiro: Revinter, 2000c. p.98-102.

SOHN,C., HAMPER,U.M., BLOHMER,J.U. Avaliação ultra-sonográfica do fluxo sanguíneo nos nódulos mamários. In:____. **Ultra-sonografia da mama.Uma abordagem sistemática da técnica e interpretação da imagem.** 1. Rio de Janeiro: Revinter, 2000d. p.104-32.

STERNS,E.E., SENGUPTA,S., SAUNDERS,F., ZEE,B. Vascularity demonstrated by Doppler ultrasound and imunohistochemistry in invasive ductal carcinoma of the breast. **Breast Cancer Res Treat**, v.40, p.197-203, 1996.

SUNG-WON,K., SUNG-SHIN,P., SOO-JUNG,A., KYUNG,M.W., JUNG-GI,I., SEOK,Y.J., KEY,C.J., DONG-YOUNG,N. Identification of angiogenesis in primary breast carcinoma according to the image analysis. **Breast Cancer Res Treat**, v.74, p.121-129, 2002.

TABAR,L., GAD,A., HOLMBERG,L.H., LJUNGQUIST,U., FAGERBERG,C.J.G., BALDETORP,L., GRÖNTÖFT,O., LUNDSTRÖM,B., MANSON,J.C., PETTERSSON,F. Reduction in mortality from breast cancer after mass screening with mammography: randomized trial from the breast cancer screening working group of the Swedish National Board of Health and Welfare. **Lancet**, v. 13, p.829-832, 1985.

TOZAKI,M., TOI,M., MIYAMOTO,Y., FUKUDA,K., Power Doppler sonography of breast masses: correlation of Doppler Spectral parameters with tumor angiogenesis and histologic growth pattern. **J. Ultrasound Med.**, v.19, p.593-600, 2000.

VIGNAL,P., MESLET,M.R., ROMÉO,J.M., FEUILHADE,F. Sonographic morphology of infiltrating breast carcinoma: relationship with the shape of the hyaluronan extracellular matrix. **J. Ultrasound Med.**, v.21, p.531-538, 2002.

YANG,W.T., LAM,W.W.M., CHEUNG,H., SUEN,M., KING,W.W.K., METREWELI,C. Sonographic, magnetic resonance imaging, and mammographic assessment of preoperative size of breast cancer. **J. Ultrasound Med.**, v.16, p.791-797, 1997.

YANG,T.W., TSE,G.M.K., LAM,P.K.W., METREWELI,C., CHANG,J. Correlation between Color Power Doppler sonographic measurement of breast tumor vasculature and immunohistochemical analysis of microvessel density for the quantitation of angiogenesis. **J. Ultrasound Med.**, v.21, p.1227-1235, 2002.

WEIDNER,N., SEMPLE,J.P., WELCH,W.R., FOLKMAN,J. Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma. **New Engl J Med**, v.324, p.1-7, 1991.

WITMER,A.N., BLIJSWIJK,B.C.V., DAI,J., HOFMAN,P., PARTANEN,T.A., VRENSSEN,G.F.J.M., SCHLINGEMANN,R.O. VEGFR-3 in adult angiogenesis. **J. Pathol.**, v.195, p.490-97, 2001.

WILKENS,T.H., BURKE,B.J., CANCELADA,D.A., JATOI,I., Evaluation of palpable breast masses with Color Doppler sonography and gray scale imaging. **J Ultrasound Med.**, v.17, p. 109-115, 1998.

WHO INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Screening techniques. In:____. **IARC Handbook of cancer prevention: breast cancer screening**. Lyon: IARC 2002. p.25-46.



8. *Ανεχο*



Comissão de Ética Médica - CEM

Análise de Projeto de Pesquisa

Referente solicitação do
Dr. Moisés Yoshifumi Komatsu

A Comissão de Ética Médica, reunida às nove horas do dia 29 de setembro de 2003, em sala do Hospital Geral de Itaquaquecetuba, **aprovou o Projeto** do Dr. Moisés Yoshifumi Komatsu, que pretende realizar exame de Ultra-Som com recurso Doppler e exame imunohistoquímico do bloco tumoral, em pacientes com câncer de mama, atendidos neste Hospital, dentro do protocolo de pesquisa de trabalho: "RELAÇÃO DO COLOR DOPPLER E POWER DOPPLER COM A DENSIDADE VASCULAR TUMORAL CORADA COM O ANTICORPO CD34 NO CÂNCER DE MAMA", desenvolvido junto à Faculdade de Medicina de Botucatu / UNESP.

Itaquaquecetuba, 29 de setembro de 2003.


Dr. Edgard Haruo Hotta