



Mary Miyazawa Simomoto
Afonso Celso Pinto Nazário
Luiz Henrique Gebrim
Geraldo Rodrigues de Lima
Manuel de Jesus Simões

*Trabalho realizado na Disciplina
de Ginecologia da Escola Paulista
de Medicina da Universidade
Federal de São Paulo.*

CINÉTICA CELULAR DO EPITÉLIO DO FIBROADENOMA MAMÁRIO DURANTE AS FASES PROLIFERATIVA E SECRETORA DO CICLO MENSTRUAL

Rev bras Mastol 1996; 6:56-65

UNITERMOS

Fibroadenoma;
Mama;
Cinética celular.

RESUMO

O fibroadenoma de mama é neoplasia benigna mista de alta incidência, principalmente em mulheres jovens. Este aspecto e a demonstração de receptores de estrogênio e progesterona reforçam sua hormônio-dependência. Por outro lado, admite-se atualmente que a glândula mamária humana normal sofre variações estruturais e funcionais marcantes durante o ciclo menstrual, em resposta às flutuações hormonais. Estudos recentes demonstraram que a atividade proliferativa do epitélio mamário elevava-se significativamente na fase lútea. Sendo o fibroadenoma alteração do desenvolvimento mamário, este poderia sofrer as mesmas variações cíclicas observadas na mama normal. Tentamos, a partir de um modelo simples de contagem de mitoses das células epiteliais do fibroadenoma, avaliar se existiria esta variação cíclica. Selecionamos 20 mulheres com fibroadenomas de mama diagnosticados clinicamente, sendo 10 na fase proliferativa e 10 na secretora. Os cálculos do índice mitótico não mostraram diferença significativa entre as fases proliferativa e secretora do ciclo menstrual, contrariando desta forma a possível ciclicidade do epitélio do fibroadenoma, como ocorre na mama normal. Concluímos, portanto, que o epitélio do fibroadenoma comporta-se como uma neoplasia verdadeira, sofrendo regulação modulada possivelmente por mecanismos parácrinos, o que justificaria o seu crescimento auto-limitado.

INTRODUÇÃO

O fibroadenoma de mama é neoplasia benigna mista, constituída por quantidades variáveis de tecidos conjuntivo fibroso e epitelial¹⁹. É mais freqüente em jovens, incidindo entre os 20 e 30 anos e coincide, pois, com o período de maturação folicular e a esteroidogênese. Este aspecto e a demonstração de receptores de estrogênio e progesterona

no fibroadenoma reforçam sua estreita hormônio-dependência⁷.

Apresentam-se como nódulos pequenos, em média com crescimento de até dois a três centímetros. Lesões maiores que cinco centímetros podem sugerir variantes especiais como os fibroadenomas gigante, juvenil, hiper celular (tumor filodes), ou ser puerperal. Na grande maioria dos casos o nódulo é único, porém, em 13,4% a

16% são múltiplos. Do ponto de vista clínico são bem delimitados, móveis, arredondados ou bocelados, indolores e de consistência fibroelástica. Sua transformação maligna é rara. Nesta eventualidade o tipo histológico habitual é o lobular *in situ*. Durante a gravidez podem apresentar atividade secretória, aumentar de volume e sofrer necrose isquêmica, ocasionando dor¹⁴.

No tocante ao comportamento biológico, o fibroadenoma pode regredir, permanecer no mesmo tamanho ou crescer progressivamente. A grande maioria, entretanto, aumenta até dois ou três centímetros, ficando nestas dimensões até a pós-menopausa, quando então é comum regredir. É interessante observar que a celularidade diminui com o avançar da idade.

Os estrogênios parecem estar intimamente ligados à sua gênese. A secreção inadequada de progesterona permite haver estímulo estrogênico persistente no tecido glandular e perilobular. É possível que a secreção inapropriada de prolactina e o distúrbio do metabolismo androgênico estejam também envolvidos; contudo, a real importância de cada um destes fatores não está ainda de todo definida². O grau de receptores estrogênicos nos fibroadenomas é significativamente maior do que em outras neoplasias benignas (lipomas, papilomas e os linfangiomas), mas não há diferença significativa quando a positividade do receptor é comparada com as alterações fibrocísticas. A quantidade de receptores estrogênicos e progestínicos varia no decorrer do ciclo menstrual. Os fibroadenomas de pacientes tratadas com a associação oral de estrogênio e progesterona não tiveram dosagens alteradas de receptores de progesterona citosólicos e nucleares, quando comparadas às da fase lútea de outras sem hormonioterapia. Em pacientes tratadas com progesterona, quando havia secreção inadequada, o receptor progestínico nuclear foi marcadamente maior que o citosólico⁷. Os receptores estrogênicos se concentram no epitélio e, os de progesterona, no estroma¹⁷.

Do ponto de vista morfológico, o tumor é pseudo-encapsulado, com nítidas margens e de fácil enucleação. Apresenta cor branco-amarelada e superfície lisa, forma esférica ou contorno bocelado, mas guarda limites nítidos. Ao corte, o tecido apresenta-se firme, pontilhado por elevações minúsculas que vão do amarelo ao rosa, com áreas amolecidas (estruturas glandulares) que realçam acima da superfície de corte, quando exibem sensação de aspereza e rugosidade. Ocasionalmente, encontram-se áreas amolecidas e gelatinosas que são discretamente opalescentes, acinzentadas ou avermelhadas (edema e hemorragia). Focos de calcificação e de infartos hemorrágicos podem existir, mas são raramente encontrados¹⁹.

À microscopia, é constituído de estroma representado por trama de células fibroblásticas com núcleos pequenos e alongados, que envolvem uma proliferação atípica de dutos e ácinos. As fendas encontradas nos fibroadenomas são recobertas por uma ou duas camadas de epitélio glandular. Descrevem-se duas variedades: a pericanalicular, onde o número de células dutois e estroma é constante e a intracanalicular, na qual prepondera o crescimento conjuntivo. Clinicamente, esta classificação não apresenta relevância e, do ponto de vista bioquímico, o teor de receptores de progesterona nas variáveis intracanalicular ou pericanalicular não difere significativamente¹⁷. Estudos ultraestruturais e imuno-histoquímicos sugerem que a célula de origem do fibroadenoma seria o fibroblasto, ao invés do mioepitélio¹⁸.

O fibroadenoma se desenvolve a partir de um único lóbulo, embora lóbulos adjacentes possam ser incorporados. Demonstra-se que o fibroadenoma e o tumor filodes originariam-se do fibroblasto intralobular, enquanto o sarcoma, do fibroblasto interlobular. Em muitos aspectos, a influência hormonal é semelhante à da mama normal, pois o fibroadenoma apresenta atividade secretória na gestação e involui na menopausa. Isto implicaria, no que se refere ao manejo destes casos, que os fibroadenomas pequenos e bem caracterizados, em mulheres com menos de 25 anos, poderiam ser apenas observados. Acima desta idade, o diagnóstico de certeza se torna mais difícil somente por aspectos clínicos, pois com frequência o fibroadenoma perde as suas características habituais; aqui indica-se biópsia para confirmação diagnóstica, devido à maior incidência de carcinomas⁵. A atual classificação das doenças benignas de mama sob o termo genérico de ANDI – “Aberrations of Normal Development and Involution” – coloca o fibroadenoma como alteração benigna mamária, decorrente de processo anormal do desenvolvimento lobular, e se este for muito acentuado, levará ao desenvolvimento da forma gigante (maior que 5 cm, esta sim considerada doença *sensu strictu*). Foram demonstrados lóbulos hiperplásicos, histologicamente idênticos aos fibroadenomas clínicos, que são tão frequentes e que poderiam ser considerados normais e estariam presentes em todas as mamas⁵.

Por outro lado, admite-se atualmente que a glândula mamária normal sofre variações estruturais e funcionais marcantes durante o ciclo menstrual, em resposta às flutuações hormonais. Masters e col. demonstraram que o índice de ligação de timidina às células do epitélio mamário decrescia na fase folicular e aumentava significativamente na secretora⁹. Meyer estudou as variações cíclicas na cinética celular de dutos mamários

terminais normais e fibroadenomas. O índice de timidina tritiada na mama normal foi baixo entre o 2º e o 15º dias do ciclo, elevando-se de forma significativa entre o 16º e o 30º dias¹⁰.

Ferguson e Anderson observaram, da mesma maneira, que o índice mitótico aumentava significativamente na fase lútea, com pico no 25º dia, coincidindo com a segunda elevação do estradiol e com o acme de progesterona³. Potten e col., avaliando a cinética celular do lóbulo pelos índices mitótico e de ligação à timidina tritiada, verificaram semelhante aumento na fase lútea; ambos os índices declinavam com a idade¹⁶.

Nazário, também em nosso meio, demonstrou que a glândula mamária sofre alterações morfológicas intensas durante o ciclo menstrual e que os graus de proliferação e de atividade metabólica do epitélio, avaliados pelo índice mitótico e volume nuclear médio eram significativamente maiores na fase secretora em decorrência da ação da progesterona ou do sinergismo entre ela e o estradiol¹².

Deste modo, se o fibroadenoma é considerado por vários autores não ser verdadeira neoplasia, mas desvio do desenvolvimento normal⁵, seria de se esperar que sofresse as mesmas variações cíclicas observadas no tecido mamário normal.

Neste sentido, motivamo-nos a esclarecer se o fibroadenoma também sofreria variação cíclica em sua atividade proliferativa.

MÉTODO

Foram selecionadas 20 pacientes atendidas nos setores de Mastologia da Disciplina de Ginecologia da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina e do Hospital Ipiranga de São Paulo, no período de janeiro de 1991 a setembro de 1992, as quais se submeteram à enucleação de fibroadenomas.

Incluíram-se mulheres jovens, eumenorréicas há pelo menos seis meses, isto é, apresentando ciclos regulares de 28 ou mais ou menos dois dias, conhecedoras da data da última menstruação e com exames ginecológico e citológico cérvico-vaginal normais.

Foram eliminadas as pacientes que haviam recebido medicação hormonal nos últimos 12 meses, as gestantes, as que amamentaram nos últimos 12 meses, as que apresentaram endocrinopatias ou as que tomaram qualquer droga na época da biópsia, além dos casos onde o exame anatomopatológico não confirmou o diagnóstico de fibroadenoma.

Tabela 1
Caracterização da fase do ciclo menstrual

Caso	Dia do ciclo	Progesterona* (ng/ml)	Fase do ciclo
1	10	0,2	Proliferativa
2	12	0,3	Proliferativa
3	12	1,1	Proliferativa
4	11	0,2	Proliferativa
5	12	1,1	Proliferativa
6	12	0,2	Proliferativa
7	2	0,2	Proliferativa
8	12	0,9	Proliferativa
9	5	<0,1	Proliferativa
10	9	<0,1	Proliferativa
11	30	6,3	Secretora
12	24	7,4	Secretora
13	29	3,1	Secretora
14	20	7,7	Secretora
15	30	6,6	Secretora
16	22	5,5	Secretora
17	21	4,4	Secretora
18	28	3,2	Secretora
19	20	25	Secretora
20	20	3,2	Secretora

* Valores normais: Fase proliferativa: até 1,5 ng/ml
Fase secretora: > 3,0 ng/ml

As pacientes foram divididas, ao acaso, em dois grupos, sendo 10 na fase proliferativa e igual número da secretora (tabela 1).

O ciclo menstrual foi caracterizado de acordo com as datas da última menstruação e com a dosagem de progesterona sérica. Esta foi realizada por radioimunoensaio e considerou-se boa atividade luteínica valores iguais ou superiores a 3,0 ng/ml.

Os fibroadenomas foram retirados por biópsia excisional em ambulatório, utilizando-se anestesia local e dissecação cuidadosa. As cirurgias foram realizadas entre 10:00 e 11:00 horas, a fim de minimizar as possíveis variações circadianas na cinética celular⁹.

Apresentam-se, na tabela 1, os dados do dia do ciclo menstrual em que a biópsia foi realizada e os respectivos valores séricos de progesterona.

Os casos foram analisados do ponto de vista morfológico, sem o conhecimento prévio da fase menstrual em que as pacientes se encontravam, para evitar qualquer tendenciosidade na leitura.

O plano geral da pesquisa foi previamente aprovado pelas Comissões de Ética Médica do Hospital São Paulo e do Hospital Ipiranga de São Paulo.

Preparação Histológica

Após a retirada dos nódulos por biópsia excisional, estes eram partidos ao meio e fixados imediatamente em líquido de Bouin, onde permaneciam por três dias.

O material era desidratado em álcool etílico, depois diafanizado pelo xilol e impregnado pela parafina líquida em estufa, regulada à temperatura de 59° C. As peças eram então incluídas na parafina do terceiro banho.

Os cortes dos blocos assim obtidos foram feitos em micrótomo tipo Minot (marca American Optical, modelo 820), ajustado para 5 micrômetros. Os cortes foram colados em lâminas à temperatura de 37° C, durante 24 horas, para secagem, colagem e coloração pelos métodos de hematoxilina e eosina. Foram utilizadas 20 lâminas com dois cortes para cada estudo em microscopia de luz, sendo 10 na fase proliferativa e igual número na fase secretora.

O diagnóstico morfológico de fibroadenoma foi firmado por anatomopatologista e, então, iniciou-se o estudo morfológico.

Determinação do Índice Mitótico

O índice mitótico foi calculado utilizando-se cortes semi-seriados de 5 micrômetros de espessura, corados pela

hematoxilina e eosina, com o auxílio de microscópio Zeiss, com ocular de aumento de 8x e objetiva de aumento 100x, perfazendo um aumento final de 800x.

Os cortes foram divididos em quatro quadrantes, e realizamos a contagem das figuras de mitose presentes em 1000 núcleos, sendo 250 núcleos em cada quadrante.

Os núcleos contados foram os mais íntegros possíveis, sem sinais degenerativos e de secção transversa.

Desta forma, obteve-se o índice mitótico, cujo numerador era o número de mitoses encontradas dividido pelo total de núcleos contados, ou seja, 1000.

Neste total de 20.000 núcleos, obtivemos 10 índices mitóticos para cada fase do ciclo menstrual, num total de 20.

Método estatístico

A avaliação estatística dos resultados foi realizada por testes não paramétricos, devido à natureza da distribuição dos valores ou da variabilidade das medidas efetuadas. Foram aplicados os seguintes testes:

a. Teste exato de Fischer para tabelas 2 x 2, com o objetivo de comparar os grupos da fase proliferativa ou secretora, em relação à paridade e lactação;

b. Teste de Mann-Whitney para duas amostras independentes, na comparação das pacientes das fases proliferativa ou secretora, com relação à idade, época da menarca, idade do primeiro e último partos, número de gestações e de partos, valores de índice mitótico.

Em todos os testes, fixou-se em 0,05 ou 5% (risco alfa menor ou igual a 0,05), o nível para a rejeição da hipótese de nulidade, assinalando-se com asterisco os valores significantes.

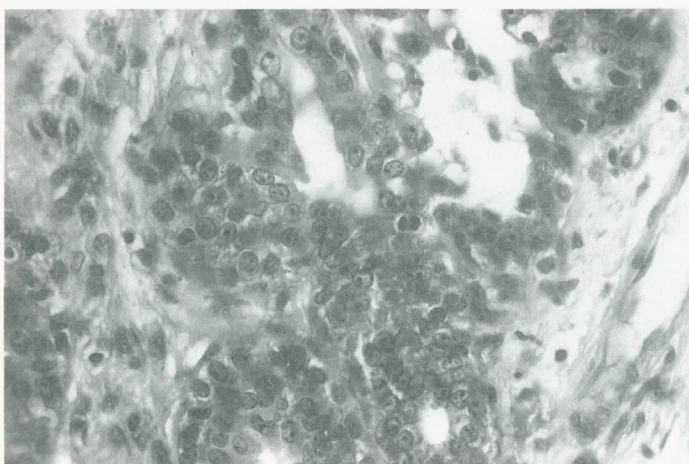


Figura 1 - Fotomicrografia de parte de fibroadenoma na fase proliferativa. Coloração H.E. Aumento de $\pm$ 650 vezes.

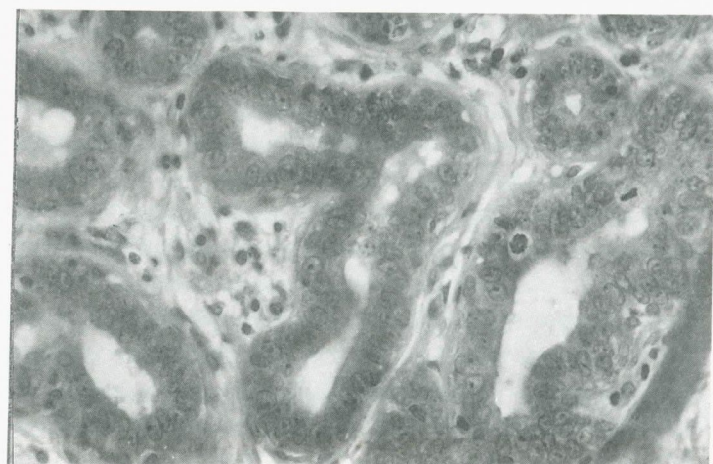


Figura 2 - Fotomicrografia de parte de fibroadenoma na fase secretora. Coloração H.E. Aumento de $\pm$ 650 vezes.

Tabela 2
Índice mitótico (em ‰) do epitélio do
fibroadenoma mamário, nas fases proliferativa e
secretora do ciclo menstrual

Fase proliferativa	Fase secretora
2	2
6	1
2	7
14	10
12	3
15	5
6	1
6	2
8	19
2	11
Média	7,3
	6,1

Teste de Mann - Whitney

U crítico = 23

U calculado = 39

RESULTADOS

Não houve diferença significativa entre o índice mitótico observado na fase proliferativa em relação ao da fase secretora (tabela 2 e figuras 1 e 2).

DISCUSSÃO

O fibroadenoma, considerado por alguns como uma aberração do desenvolvimento mamário, comportou-se em nosso estudo de forma inesperada, isto é, não mostrou a ciclicidade característica do epitélio mamário normal.

Em relação ao fibroadenoma, analisando-se a literatura pertinente, defrontamo-nos apenas com único trabalho que avaliou a cinética celular consoante a fase do ciclo; de fato, Meyer, em 1977, estudando as variações cíclicas na cinética celular de dutos mamários terminais normais e nos fibroadenomas, demonstrou que o índice de timidina triatida foi baixo entre o segundo e o décimo quinto dia, elevando-se de forma significativa entre o décimo sexto e o trigésimo dia¹⁰. Este índice era maior nos fibroadenomas do que nos dutos terminais normais, diferença esta atribuída à menor média de idade das pacientes. De fato, levando-se em conta que a síntese de DNA pode durar até 12 horas, a média do tempo de "turnover" das células dos dutos terminais normais seria

de aproximadamente 22 dias em mulheres com 20 anos, com ciclos eumenorreicos, podendo aumentar até 147 dias aos 40 anos de idade. Nos fibroadenomas, o tempo de duplicação seria de aproximadamente 33 dias, porém, em tumores antigos este tempo poderia se prolongar. A comparação com células dutois terminais normais em pacientes da mesma idade sugere que o crescimento anormal dos dutos do fibroadenoma pode representar maior longevidade de suas células, ao invés de aumento de proliferação¹⁰.

Outra possibilidade seria a existência de diferentes tipos de clones celulares intratumorais contrapondo-se com a distribuição regular do lóbulo mamário.

Os resultados obtidos por Meyer foram diversos daqueles por nós encontrados, pois não pudemos verificar diferença significativa da atividade proliferativa do fibroadenoma durante o ciclo menstrual, talvez em decorrência da metodologia utilizada.

A glândula mamária, como já amplamente demonstrado, sofre alterações em sua estrutura histológica relacionada ao ciclo menstrual. Estudos em material de autópsias mostraram hipertrofia glandular no período pré-menstrual e regressão pós-menstrual. Outros autores contestaram tais resultados em pesquisas nas quais não encontraram alterações cíclicas marcantes no epitélio glandular, observando apenas modificações no tecido conjuntivo intralobular, o qual se tornava frouxo na fase pré-menstrual. Alguns consideravam a mama não gravídica como estando em repouso funcional, conceito que só posteriormente foi abolido; demonstrou-se que a glândula mamária sofre alterações histológicas intensas durante o ciclo menstrual e que a cinética celular do epitélio mamário comporta-se de forma diversa ao endométrio³. A cinética celular da mama normal é

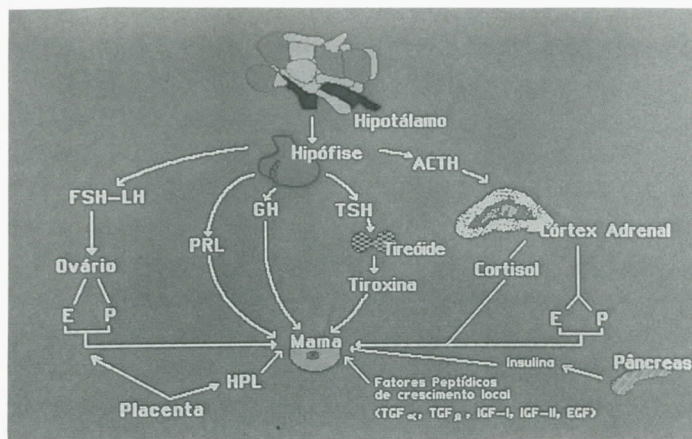


Figura 3 - Controle endócrino da glândula mamária humana
 (Adaptado de Nazário e col., 1994)¹².

modulada por mecanismos complexos, de natureza endócrina, parácrina e autócrina (figura 3). Destacamos a insulina, o hormônio do crescimento, a prolactina, a somatostatina, os hormônios tireoidianos, os corticóides, o hormônio lactogênio placentário e os fatores peptídicos de crescimento local^{8,13}. O hormônio de crescimento, a insulina e a tiroxina teriam efeito mamotrófico indireto, ao estimular o metabolismo de forma geral¹³. No caso dos corticóides, da prolactina e do hormônio lactogênio placentário, a atuação seria diretamente sobre o epitélio mamário, produzindo crescimento duto e lobular^{13,15}. Os esteróides sexuais são destacadamente os mais importantes no controle do desenvolvimento mamário^{13,15}. O estradiol agiria sobre a atividade mitótica mediante ação nos fatores de crescimento ou em seus receptores, como o fator alfa de transformação de crescimento, fatores insulinóides I e II e o fator de crescimento epidermal⁸. A progesterona poderia agir estimulando a síntese do fator epidermal de crescimento.

Admitia-se que a unidade morfofuncional mamária, o lóbulo, teria regulação semelhante ao endométrio, com proliferação pré-ovulatória e atividade secretora na fase lútea. Estudos recentes esclareceram melhor o papel dos esteróides sexuais, demonstrando-se que havia atividades metabólicas e proliferativas mais intensas durante a fase lútea, com pico de mitose ocorrendo no 25º dia do ciclo^{3,9,12}.

A classificação proposta por Hughes e col., visava melhor compreensão e manejo das afecções benignas mamárias, baseada na noção de que a maioria destas representaria aberrações menores no processo normal de desenvolvimento, nas alterações cíclicas e na involução glandular. O acrograma ANDI ("Aberrations of Normal Development and Involution") foi introduzido para classificar as alterações mamárias sobre o prisma da patogênese, descartando o termo "doença fibrocística" e seus sinônimos, em favor de terminologias que descrevessem clínica ou histologicamente as lesões. O fato marcante do desenvolvimento mamário na menarca é o aparecimento de estruturas lobulares no sistema duto em desenvolvimento. Neste período, entre os 15 e 20 anos, ocorreriam a hipoplasia mamária, o mamilo invertido, a hiperplasia mamária juvenil e o fibroadenoma⁵.

Segundo Hughes e col.⁵, a mama sofre alterações cíclicas bem nítidas clinicamente, com aumento de volume pré-menstrual e involução pós-menstrual, porém, segundo os autores, não existiriam bases histológicas para este fato, apesar de o estímulo hormonal ser bem reconhecido nas atividades epiteliais e estromais. A fibrose, a adenose e a infiltração linfóide comumente ocorrem, mas não poderiam ser correlacionadas com os episódios de mastalgia e nodularidade. O efeito mais radical da amamentação e da

gravidez sobrepõe-se às alterações cíclicas e, em geral, leva a um estado histológico "normal". Entretanto, após a gestação existem áreas de involução com regressão e fibrose, junto a outras com pronunciada atividade glandular, que podem persistir por anos.

Hughes e col.⁵ também consideravam o fibroadenoma como aberração do desenvolvimento normal do lóbulo mamário em virtude de suas características clínicas, histológicas e comportamentais. De fato, a semelhança freqüente com hiperplasias lobulares simples, seu comportamento autolimitado, sua hormônio-dependência caracterizada pela capacidade secretória no período gravídico e sua regressão até calcificação na pós-menopausa justificavam a postulação de que o fibroadenoma fosse um desvio do desenvolvimento mamário normal.

Entretanto, Hughes considerava os fibroadenomas maiores que cinco centímetros (gigantes), ou em maior número que cinco (múltiplos), como raros e com tendência ao crescimento contínuo; assim caracterizava-se a doença e indica-se a exérese⁵. Em nossa opinião, considerando não haver mudança nos padrões histológicos entre estes fibroadenomas "especiais" e os nódulos pequenos e em menor número, não consideramos suficientemente pertinente a divisão doença ou aberração do desenvolvimento por este critério, nos levando a pensar que muitos casos seriam então subavaliados, estando em estágio intermediário ou progressivo da doença. Outros autores, buscando uma resolução prática para o impasse de se realizar a exérese do fibroadenoma ou manter conduta expectante, concluíram que a certeza diagnóstica é fundamental, sendo indispensável a punção aspirativa diagnóstica para afastar doença maligna. É interessante observar que, em um grupo de fibroadenomas onde foi feito seguimento de 12 meses, houve crescimento em mais da metade dos casos. O crescimento não apresentou correlação com a idade nem com o uso de anticoncepcionais orais. Mesmo sem crescimento aparente, os fibroadenomas persistiram e apenas cerca de 16% deles diminuíram ou desapareceram. Estudos em peças de mastectomia, portanto em pacientes muito mais idosas que o pico de incidência dos fibroadenomas, mostraram que estes tendem a ser menos celulares e sofrem hialinização, podendo até se desfazer em meio ao parênquima residual⁶.

O fenômeno de necrose que ocorre nas neoplasias malignas, raramente ocorre nos fibroadenomas, independente do seu tamanho. Guerreiro da Silva, avaliando a angiogênese do fibroadenoma, no carcinoma duto infiltrante e no tecido mamário adjacente, demonstrou que esta é três vezes menor no fibroadenoma do que na

neoplasia maligna, porém sem qualquer indício de necrose. Este fenômeno ocorreria devido ao fibroadenoma talvez não necessitar de aporte sanguíneo maior do que o fornecido aos tecidos normais, uma vez que sua angiogênese não mostrou diferença significativa, quando comparada à do tecido normal. A distribuição dos vasos no tumor benigno foi semelhante à do tecido normal, porém com menor concentração no tecido conjuntivo fibroso⁴. Os tumores sólidos, independente de sua origem, precisam de um estroma ativo para o seu desenvolvimento. Estes não são compostos exclusivamente por células neoplásicas, mas por infiltrados celulares de linfócitos, macrófagos, mastócitos, fibroblastos e histiócitos ao lado de fibras colágenas, proteoglicanas, laminina e fibronectina, elementos estes importantes para o estabelecimento da rede vascular em formação. Os fatores de crescimento transformante alfa e beta, o fator de crescimento fibroblástico, o fator de crescimento endotelial derivado de plaquetas e o fator de crescimento insulinóide tipo I, entre outros, exercem papel fundamental.

Estudo morfológico avaliando a interdependência entre o epitélio e estroma nos tumores fibroepiteliais demonstrou existir relação espacial entre as mitoses do estroma e o epitélio circunjacente dos fibroadenomas²⁰. A ocorrência de mitoses foi significativamente maior em local mais próximo ao epitélio do que distante dele. Estes resultados levantaram à hipótese de que existiriam fatores humorais produzidos pelo epitélio; eles teriam raio de ação restrito a uma distância aproximada de 200 mm, que corresponde ao alcance da difusão passiva de oxigênio. Estes fatores agiriam sobre os fibroblastos, estimulando a síntese de DNA, induzindo desta forma seu crescimento. Incluem-se neste grupo os fatores de

crescimento derivados de plaquetas o fator de crescimento epidermal e o fator de crescimento insulinóide tipo 1 (IGF-1). Haveria também produção de fatores de angiogênese, que seriam mitogênicos às células endoteliais e causariam a neovascularização típica de tumores. Nas regiões estudadas onde havia maior concentração de epitélio, o efeito da distância ao suprimento sanguíneo mais próximo dificilmente poderia ser distinguida dos efeitos dos fatores de crescimento produzidos pelo estroma. O peptídeo bombesin, que é mitogênico para fibroblastos de ratos *in vitro*, também é produzido por algumas linhagens de tumores mamários. Além disto, há evidência de que o estroma também influenciaria o crescimento do epitélio, pois os fibroblastos mamários aumentariam a resposta do epitélio ao estrogênio em meio de cultura; a adição de fibroblastos a linhagens celulares de carcinoma mamário aumenta significamente o seu crescimento²⁰. Este efeito encontrado levou os autores a admitirem a existência de alça de controle local onde o fator de crescimento produzido no epitélio agiria no estroma; desta forma, induziria a produção de um fator de crescimento estromal, este sim necessário ao crescimento epitelial. Esta interdependência estaria perdida nas neoplasias malignas, porém parcialmente preservada nos casos dos tumores fibroepiteliais. Estes seriam, então, lesões especializadas do estroma mamário que estimularam o crescimento do epitélio associado, mas que permaneciam com certa dependência do componente epitelial. Com o progredir do tumor, esta dependência seria perdida e, talvez, em pequena parcela de casos, poderia haver transformação sarcomatosa, não havendo inibição do crescimento estromal pelo epitélio, que estaria ausente e englobado pela neoplasia conjuntiva (figura 4).

Nossos resultados demonstraram que o fibroadenoma, avaliado por critérios morfométricos, como número de mitoses, não sofre variação cíclica durante o ciclo menstrual, mas apresenta uma resposta de crescimento persistente aos hormônios, tendo um crescimento maior que o esperado para o parênquima normal, nos levando à conclusão de que, de certa forma, tem crescimento independente, como uma neoplasia.

É possível que este comportamento decorra de um mecanismo de controle local influenciando na proliferação do fibroadenoma, mais do que por mecanismos endócrinos como o observado na mama normal. De fato, a relativa interdependência metabólica do tumor em relação às variações dos esteróides ovarianos nos faz supor que seu crescimento seja modulado de forma preponderante por mecanismos assíncronos dependentes de fatores de crescimento locais parácrinos. Como já foi ressaltado,

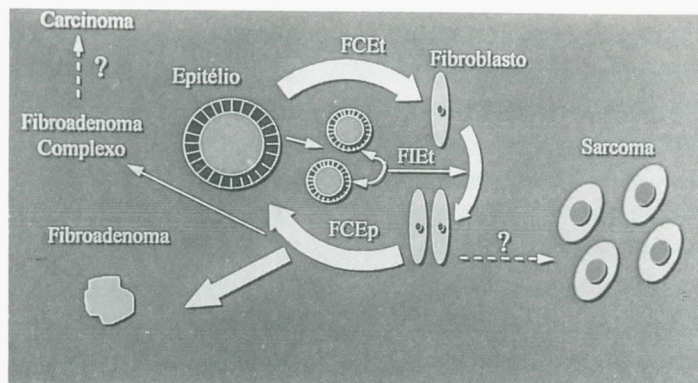


Figura 4 - Modelo de controle parácrino no crescimento do fibroadenoma.

parece haver estreita inter-relação entre o crescimento epitelial e estromal nos tumores fibropiteliais. Em uma fase inicial, a proliferação anormal do estroma levaria, secundariamente, ao crescimento do tecido epitelial adjacente, em especial pela ação dos fatores de crescimento derivados de plaquetas, do fator de crescimento epidermal e do fator de crescimento insulinóide tipo I.

Em uma segunda fase, o epitélio proliferado, por seu turno, secretaria fatores de inibição de crescimento estromal, o qual permaneceria, pois, sob sua dependência (figura 4).

De acordo com o comportamento biológico da neoplasia, o tumor estromal poderia progredir até uma fase de total autocontrole, caracterizando então o sarcoma, no qual não haveria resquício de tecido epitelial.

Este mesmo comportamento observado nos fibroadenomas mamários foi recentemente relatado nos leiomiomas uterinos. Miranda e col., estudando leiomiomas típicos, com endométrio dos tipos secretor, proliferativo e hipotrófico, contou mitoses nos três grupos, não encontrando diferença estatisticamente significativa entre eles. Concluíram ser o leiomioma uma neoplasia com baixo índice de proliferação celular e que responde de forma pouco intensa à variação cíclica dos esteróides ovarianos, pois não houve diferença na contagem de mitoses nas fases secretora e proliferativa¹¹. O fibroadenoma da mama, por igual, apresentava várias características de comportamento biológico semelhantes ao leiomioma uterino, como crescimento na gravidez, involução na pós-menopausa e baixo índice de proliferação celular.

Acreditamos, de acordo com nossos resultados e com dados recentes de literatura, que embora o fibroadenoma apresente algumas facetas clínicas e histopatológicas que possam lembrar o tecido mamário normal, tem cinética celular compatível com a de uma neoplasia verdadeira.

Assim, a seleção de casos que poderiam ser acompanhados clinicamente deveria ser mais rigorosa, uma vez que embora seu crescimento seja autolimitado, é, contudo, progressivo.

Fato preocupante é a demonstração recente de que algumas formas de fibroadenoma poderiam levar a um maior risco de desenvolvimento de neoplasia maligna epitelial.

Neste particular, Dupont e col., estudando o risco de pacientes com fibroadenomas desenvolverem doença maligna, observaram que estas lesões tinham variabilidade histológica consoante as associações com outras alterações benignas. Verificaram que os fibroadenomas elevam o risco para câncer de mama invasivo para 2,1 e o risco ascendia para 3,1 quando as pacientes tinham fibroadenomas complexos, isto é, associados a cistos, adenose esclerosante, calcificações epiteliais ou alterações apócrinas papilares. As pacientes com alterações benignas proliferativas ao redor do fibroadenoma tiveram risco relativo de 3,8. Se houvesse história familiar de câncer de mama e fibroadenoma complexo, o risco relativo seria 3,7, quando comparado a controles com história familiar somente. Os 2/3 das pacientes que apresentaram fibroadenomas não complexos e história familiar negativa não tiveram seu risco aumentado. Os autores concluíram que o fibroadenoma constitui-se em fator prognóstico para o câncer de mama, de expressão tardia¹.

A nosso ver, embora o fibroadenoma seja neoplasia de diagnóstico e tratamento simples, seu comportamento biológico não está totalmente esclarecido. Se, por um lado, alguns parâmetros biológicos apresentam ciclicidade à semelhança da mama normal, como já referido no tocante aos lisossomos, por outro, do prisma da cinética celular apresenta comportamento diverso.

De fato, em nosso estudo, não observamos variação cíclica na morfometria do epitélio do fibroadenoma, sugerindo talvez que o controle de sua proliferação possa ser mediado por fatores parácrinos.

Portanto, o conhecimento mais apurado de todas as suas facetas biológicas permitirá que tenhamos maior segurança na terapêutica expectante em cada caso em particular. Em virtude de sua elevada incidência, a melhor definição de seu comportamento biológico e hormônio-dependência poderá, sem dúvida, reduzir o número de biópsias.

KEY WORDS

Fibroadenoma;
Breast;
Cell Kinetics.

ABSTRACT

CELL KINETICS OF THE EPITHELIUM OF MAMMARY FIBROADENOMA DURING THE SECRETORY AND PROLIFERATIVE PHASES OF THE MENSTRUAL CYCLE

Fibroadenoma of the breast is a benign neoplasia with a mixture of glandular and mesenchymal elements of high incidence and is mainly presented in young women. This aspect and the demonstration of estrogen and progesterone receptors reinforce its hormone dependency. On the other hand, it is also known that the normal human mammary gland undergoes functional and structural changes during the menstrual cycle due to hormonal fluctuations. Recent studies have demonstrated that the proliferative activity of the mammary epithelium is significantly increased during the luteal phase. In order to assess whether fibroadenomas behave like the normal breast under the cyclical activity of hormones we counted the number of mitosis in epithelial cells in both the proliferative and luteal phases. We selected 20 women with clinically diagnosed fibroadenomas, 10 of which were in the proliferative phase while the other 10 were in the secretory phase. Our results show no significant differences in mitotic index between the proliferative and the luteal phases of fibroadenomas. We therefore conclude that the epithelium of fibroadenomas behaves like a true neoplasia whose regulation may occur via paracrine mechanisms which would in turn justify its self-limited growth.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DUPONT WD, PAGE DL, PARL FF et al. Long-term risk of breast cancer in women with fibroadenoma. *New Engl J Med* 1994; 311(1): 10-15.
2. FENTIMAN JS. Risk Factors for Benign Breast Disease. In: SMALLWOOD JA & TAYLOR O. Benign Breast Disease. Baltimore: Urban & Schwarzenberg, 1990.
3. FERGUSON DJP, ANDERSON TJ. Morphological evaluation of cell turnover in relation to the menstrual cycles in the "resting" human breast. *Br J Cancer* 1981; 44: 177-181.
4. GUERREIRO DA SILVA IDC. Angiogênese no fibroadenoma, no carcinoma ductal infiltrante e no tecido mamário adjacente. Estudo histométrico e imuno-histoquímico. São Paulo, 1993 (Tese de Mestrado – Escola Paulista de Medicina).
5. HUGHES LE, MANSEL RE, WEBSTER DJT. Aberrations of normal development and involution (ANDI): a new perspective on pathogenesis and nomenclature of benign breast disorders. *Lancet* 1987; 5: 1316-1319.
6. KERN WH, CLARK RW. Regression of fibroadenomas of the breast. *Amer J Surg* 1973; 126: 59-62.
7. KUTTENN F, FOURNIER S, DURAND JC, MAUVAIS-JARVIS P, BAUDOT N, DOUKANI A. Estradiol and progesterone receptors in human breast fibroadenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 52: 1225-1229.
8. LIPPMAN ME, DICKSON RB. Mechanisms of normal and malignant breast epithelial growth regulation. *J Steroid Biochem* 1989; 34: 107-21.
9. MASTERS JRW, DRIFE JO, SCARISBRICK JJ. Cyclic variation of DNA synthesis in human breast epithelium. *J Natl Cancer Inst* 1977; 58: 1263-1265.
10. MEYER JS. Cell proliferation in normal human breast ducts, fibroadenomas, and other ductal hyperplasias measured by nuclear labeling with tritiated thymidine. Effects of menstrual phase, age, and oral contraceptive hormones. *Hum Pathol* 1977; 8: 67-81.
11. MIRANDA CRR, FREITAS MMS, BARBIERI NETO J. Avaliação da contagem de mitoses em leiomiomas uterinos durante o ciclo reprodutivo da mulher. *RBGO* 1995; 17: 681-687.
12. NAZÁRIO ACP, RODRIGUES DE LIMA G, SIMÕES MJ. Histofisiologia cíclica da mama. In: DIAS EN, CALEFFI M, SALVADOR SILVA, HM, FIGUEIRA FILHO, ASS. Mastologia atual. Rio de Janeiro: Revinter, 1994.
13. O'HIGGINS N. Endocrine influence on the breast. *Ir Med J* 1984; 77: 49-51.
14. PICK PW, IOSSIFEDES IA. Occurrence of breast carcinoma within a fibroadenoma. A review. *Arch Pathol Lab Med* 1984; 108: 590, 1981.
15. PORTER JC. Hormonal regulation of breast development and activity. *J Invest Dermatol* 1974; 63: 85-92.

16. POTTEN CS, WATSON RJ, WILLIAMS GT et al. The effect of age and menstrual cycle upon proliferative activity of the normal human breast. *Br J Cancer* 1988; 58: 163-70.
17. RAMANATH-RAO B, MEYER JS, FRY CG. Most cystosarcoma phyllodes and fibroadenomas have progesterone receptor but lack estrogen: Stromal localization of progesterone receptor. *Cancer* 1981; 47: 2016-2021.
18. REDDICK RL, SHIN TK, SAWHNEY D, SIEGAL GP. Stromal proliferations of the breast: An ultrastructural and immunohistochemical evaluation of cystosarcoma phyllodes, juvenile fibroadenoma, and fibroadenoma, and fibroadenoma. *Human Pathol* 1987; 18: 45-49.
19. ROBBINS SL. *Patologia estrutural e funcional*. Editora Internamericana, 1983.
20. SAWHNEY N, GARRAHAN N, DOUGLAS-JONES AG, WILLIAMS ED. Epithelial-stromal interactions in tumors. A morphologic study of fibroepithelial tumors of breast. *Cancer* 1992; 70: 2115-2120.

Endereço para correspondência:

Mary Miyazawa Simomoto
Av. Aratans, 871 - apto. 132
04081-004 - São Paulo - SP