

Anatomia Patológica e Citologia no rastreamento e diagnóstico das alterações mamárias

The Pathology and Cytology in the screening and diagnosis of breast alterations

Filomena Marino Carvalho¹, Lígia Maria Kerr²

Descritores

Patologia
Classificação
Carcinoma
Diagnóstico
Biópsia percutânea
Biópsia por agulha fina

Keywords

Pathology
Classification
Carcinoma
Diagnosis
Biopsy, Percutaneous
Biopsy, Fine-needle

RESUMO

Os autores discutiram o papel do patologista no rastreamento e diagnóstico do câncer de mama. Foram apresentados os métodos propedêuticos frente às alterações identificadas pelos métodos de imagem, suas principais indicações e as classificações citológica e histológica, além de critérios de re-biópsia, assim como os de necessidade de ampliação cirúrgica de lesões benignas frente ao risco de subestimação. Foram fornecidas as informações básicas que devem constar nos laudos de carcinoma invasivo, incluindo o perfil imunoistoquímico prognóstico e preditivo. Finalmente, os autores analisaram o papel do exame imunoistoquímico como auxiliar no diagnóstico histológico de várias condições mamárias duvidosas, como proliferações epiteliais intraductais, suspeita de invasão e definição de tipo histológico e sítio primário em metástases.

ABSTRACT

The authors discussed the pathologist's role in screening and diagnosis of breast cancer. Propaedeutic methods for the image alterations, their main indications, and cytological and histological classifications were presented, and also the criteria for re-biopsy, as well as the need for surgical excision of benign lesions due to the risk of underestimation. There were provided the basic information to be included in the pathological report of invasive carcinoma, including predictive and prognostic immunohistochemical profile. Finally, the authors analyzed the role of the immunohistochemistry as auxiliary in the histologic diagnosis of several doubtful conditions, such as epithelial intraductal proliferations, suspiciousness of invasion, and definition of histologic type and primary site of metastasis.

Trabalho realizado no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo (SP), Brasil.

¹Professora Associada do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da USP – São Paulo (SP), Brasil.

²Departamento de Patologia do Hospital do Câncer de Barretos – Barretos (SP), Brasil.

Endereço para correspondência: Filomena Marino Carvalho – Avenida Dr. Arnaldo, 455, sala 1149 – CEP 01246-903 – São Paulo (SP)

E-mail: filomena@usp.br

Conflito de interesses: nada a declarar.

Recebido em: 12/11/2013. **Aceito em:** 28/11/2013

Introdução

O papel do patologista na equipe responsável pelas estratégias de rastreamento e diagnóstico do câncer de mama se dá através dos métodos citológico, histológico, imunoistoquímico e molecular. As indicações do método adequado dependem do tipo de alteração evidenciada pelos métodos de imagem. Cabe ao patologista utilizar a classificação cito e histológica adequada, atual e conhecida da equipe, auxiliar na correlação anatomoradiológica identificando os casos para re-biópsia ou para biópsia cirúrgica, e fornecer as informações necessárias para o adequado manejo clínico (seguimento, definição de categorias de risco, e os fatores prognósticos e preditivos nos casos de câncer).

Procedimentos diagnósticos e principais indicações

Os procedimentos mais utilizados no contexto do rastreamento são: a Punção Aspirativa por Agulha Fina (PAAF), as biópsias percutâneas com pistola automática (*core biopsy*) ou assistida a vácuo (mamotomia) e a biópsia cirúrgica, incisional ou excisional. Nenhum método deve ser interpretado isoladamente, mas sim, associado ao quadro clínico e imaginológico. O patologista deve receber a informação do tipo de alteração que motivou a biópsia.

A PAAF encontra sua principal indicação em nódulos, de preferência aqueles com quadro clínico-imaginológico bem definidos como benigno ou maligno, citando exemplos, temos o fibroadenoma e as metástases linfonodais em mulheres com carcinoma de mama. Em pacientes sem diagnóstico, mas com quadro imaginológico de carcinoma, o ideal é que a amostra seja colhida em meio líquido para a realização de emblocado em parafina do material, permitindo melhor acurácia no exame quanto a definição de invasão e perfil imunoistoquímico prognóstico e preditivo. A PAAF não deve ser o método de escolha, salvo em raras exceções, para microcalcificações ou distorções arquiteturais.

A biópsia percutânea com pistola automática é o método de escolha para nódulos e pode ser útil nos casos de distorções arquiteturais ou alterações de densidade, embora com menor acurácia. O volume de tecido na amostra depende do calibre da agulha e do número de disparos, fatores que influenciam na acurácia. A biópsia percutânea assistida a vácuo difere da biópsia com pistola automática pelo maior volume de tecido na amostra e por permitir que os fragmentos retirados sejam contíguos, mais confortáveis para o patologista e compatíveis com estimativa do volume de lesão retirado na biópsia. A mamotomia é indicada em qualquer tipo de alteração imaginológica, sobretudo aquelas com dimensão de até 10,0 mm. Alterações mamárias maiores, mais extensas na mama, devem

ser investigadas por biópsia cirúrgica ou mesmo por biópsia com pistola automática com múltiplos disparos ao longo da lesão. A mamotomia é o método de eleição para as microcalcificações agrupadas.

Classificação dos espécimens citológicos e histológicos provenientes de biópsias percutâneas

O diagnóstico do material proveniente das biópsias percutâneas deve contemplar a correlação com a imagem radiológica. A consistência entre os achados histológicos e a imagem, assim como eventual necessidade de re-biópsia ou de ampliação cirúrgica, devem ficar claros no relatório, seja do patologista, seja do radiologista. Uma das formas de se obter esta informação é a utilização das categorias diagnósticas determinadas pelo *National Health Service Breast Screening Programme* (NHSBSP) do Reino Unido¹ (Tabela 1).

A categorização do NHSBSP não deve ser obrigatória, mas representa uma ferramenta útil e prática em programas de rastreamento, na medida em que orienta mais objetivamente a conduta subsequente ao diagnóstico. Deve ficar claro que esta classificação não substitui o diagnóstico cito/histológico da alteração, mas ela o complementa.

As categorias C1 e B1 correspondem às amostras com material insuficiente ou tecido mamário normal. No caso de amostra com tecido glandular e/ou estromal mamário benigno deve ser considerada a possibilidade de hamartoma ou lipoma. Caso a biópsia não justifique a imagem, a propedêutica deve continuar. A re-biópsia é uma decisão que deve ser tomada após discussão do radiologista com o patologista frente aos diagnósticos C1 ou B1. Pode ser tentada nos casos em que houve falha no procedimento inicial. Entretanto, se o método inicialmente utilizado foi limitado para obtenção do material, pode ser tentado outro método para investigação. Por exemplo, se foi realizada a PAAF, pode ser tentada uma biópsia com amostra histológica.

Tabela 1. Categorias diagnósticas dos espécimes citológicos e histológicos de biópsias percutâneas, segundo *National Health Service Breast Screening Programme*

Categoria citológica	Categoria histológica
C1 – Insatisfatório	B1 – Insatisfatório/tecido normal
C2 – Benigno	B2 – Benigno
C3 – Atipia, provavelmente benigno	B3 – Benigno, potencial incerto de malignidade
C4 – Suspeito para malignidade	B4 – Suspeito para malignidade
C5 – Maligno	B5 – Maligno

As categorias C2 e B2 refletem alteração benigna e compatível com a imagem. Estão aqui várias alterações, como fibroadenoma, alterações fibrocísticas, ectasia ductal, linfonodo intramamário, abscessos e esteatonecrose.

Em estudo retrospectivo com avaliação de 121.742 biópsias realizadas no período de 8 anos, 50.691 receberam diagnóstico B2 e 9.599, B1. As taxas de subestimação nesses grupos foram de somente 0,5%².

A categoria C3 corresponde à citologia com atipias, mas provavelmente benignas. Já a categoria C4 apresenta atipias com maior probabilidade de malignidade.

A categoria histológica B3 corresponde ao grupo de alterações benignas associadas ao risco de subestimação, e para as quais deve ser discutida a necessidade de ampliação cirúrgica. São estas as alterações:

- Atipias epiteliais: atipia epitelial plana, hiperplasia ductal atípica, neoplasia intraepitelial lobular;
- Lesões fibroepiteliais nodulares com estroma hiper celular;
- Lesões papilíferas;
- Cicatriz radiada/lesões esclerosantes complexas;
- Lesões com células fusiformes;
- Mucocele;
- Lesões vasculares.

As taxas de subestimação estão baseadas em alguns estudos retrospectivos com alterações detectadas em rastreamento mamográfico³ (Tabela 2). Essas taxas variam muito, pois dependem de vários fatores, como o tipo de lesão histológica e sua extensão na amostra, o tamanho da imagem, tipo de biópsia (pistola ou a vácuo), número de fragmentos e tamanho da agulha. Recentemente tem se demonstrado redução no valor preditivo positivo de lesões B3, provavelmente devido ao aumento no diagnóstico imagiológico de algumas alterações benignas⁴. Possíveis exceções para a ampliação cirúrgica podem ser consideradas dentro do contexto clínico-imagiológico. Atualmente, tem se discutido a necessidade de cirurgia nesses casos, já que cerca de 70 a 90% delas se mostram desnecessárias, onerando os sistemas de saúde⁵.

Em estudo retrospectivo com coleta de dados e revisão dos preparados histológicos de 322 pacientes com diagnóstico por biópsia percutânea de hiperplasia ductal atípica, atipia epitelial plana, hiperplasia lobular atípica ou carcinoma lobular *in situ* submetidas à biópsia cirúrgica no Instituto Gustave Roussy, os autores criaram um nomograma para previsão do risco de subestimação dessas atipias. Esse modelo identificou a idade da paciente (OR 2,6; IC95% 1,19–3,92), tamanho da lesão >15,0 mm (OR 2,56; IC95% 1,03–6,34) e desaparecimento da imagem após biópsia (OR 0,44; IC95% 0,17–1,15), como as variáveis mais significativas quanto à presença de carcinoma ductal “*in situ*” ou invasivo na peça cirúrgica⁵. O modelo de previsão para risco de câncer acima de 20% se associa à sensibilidade de 78%, especificidade de

66%, valor preditivo positivo de 36% e valor preditivo negativo de 90%⁵.

A categoria B4 é caracterizada por tecido provavelmente maligno, mas que por má condição técnica do material, ou volume muito reduzido na amostra, não permite conclusão diagnóstica com segurança.

As categorias C5 e B5 contém amostras francamente malignas. Na citologia não é possível identificar se a neoplasia é “*in situ*” ou invasiva, a menos que se tenha material colhido em meio líquido e embocado em parafina. Em biópsias de categoria B5, devem ser fornecidos todos os informes morfológicos prognósticos e o perfil imunoistoquímico prognóstico e preditivo, já que a acurácia na determinação dos receptores hormonais, bem como da expressão do oncogene *Human Epidermal Growth Factor Receptor-type 2* (HER2) é alta nas biópsias percutâneas⁶.

As informações anatomopatológicas que devem ser incluídas nos casos de carcinoma invasivo são:

- Tipo histológico segundo classificação atual da Organização Mundial da Saúde (OMS);
- Presença e extensão do componente *in situ*;
- Grau histológico;
- Tamanho estimado da neoplasia (casos de mamotomia);
- Comprometimento vascular;
- Receptor de estrogênio;
- Receptor de progesterona;
- HER2;
- Ki-67.

Devemos ressaltar que a realização da biópsia percutânea nos casos de carcinoma melhora a qualidade da cirurgia oncológica, sobretudo quanto à segurança de margens cirúrgicas, número de procedimentos, e avaliação axilar⁷. Um aspecto importante a ser discutido é a necessidade da biópsia do linfonodo sentinela em casos com diagnóstico de carcinoma ductal *in situ* na biópsia. Em estudo que avaliou

Tabela 2. Lesões mamárias benignas da categoria B3 do *National Health Service Breast Screening Programme* e taxas aproximadas de subestimação

Lesão	Taxas aproximadas de subestimação
Hiperplasia ductal atípica	4–54%
Atipia epitelial plana	0–20%
Neoplasia intraepitelial lobular	0–38%
Lesões papilíferas	18–38% (com atipia) 0–13% (sem atipia)
Cicatriz radiada	39% (com atipia) 9% (sem atipia)
Lesão fibroepitelial	2%

205 casos nessas condições, foram encontrados 37 (18%) carcinomas na peça cirúrgica⁸. Os autores deste estudo identificaram na análise univariada os seguintes fatores de risco: lesão palpável, massa ao ultrassom, massa/alteração arquitetural/densidade à mamografia, BIRADS 5, lesão maior ou igual a 50 mm, e pelo menos 50% dos ductos da amostra histológica comprometidos.

Na análise multivariada somente a presença de lesão palpável teve um valor independente. A presença de lesão palpável associada a pelo menos três das demais variáveis se associou ao risco de invasão de 56%. Com esse risco foi possível restringir 9,8% (20/205) das indicações de biópsia do linfonodo⁸.

Cuidados técnicos com os espécimens cito/histológicos

Os espécimens enviados ao patologista devem sempre vir acompanhados de requisição com todos os informes clínicos e imagiológicos. As informações que devem ser incluídas no pedido são:

- Data do procedimento;
- Tempo de isquemia fria (da retirada do espécime até a imersão no fixador);
- Tipo de fixador e horário em que o material foi fixado;
- Tipo de procedimento;
- No caso de biópsia com pistola automática, informar o número de fragmentos obtidos;
- Método de imagem utilizado para orientação da biópsia;
- Lateralidade da mama;
- Número de lesões;
- Localização da lesão na mama, de preferência segundo horas do relógio;
- Distância da lesão da papila mamária;
- Tamanho da(s) lesão(ões);
- Características imagiológicas da lesão.

Os casos com microcalcificações devem ter os espécimes radiografados e a imagem enviada ao patologista para que este possa relacioná-la aos achados histológicos. Os fragmentos que contêm as microcalcificações devem ser enviados em separado para que o patologista possa fazer um estudo mais minucioso. Recomendamos que esses fragmentos sejam examinados sempre em cortes histológicos em três níveis.

Correlação anatomo-radiológica

A avaliação histológica deve permitir o diagnóstico e a sua correlação com a imagem. As principais associações entre imagens e quadro histológico podem ser observadas na Tabela 3.

Tabela 3. Principais achados histológicos em diferentes imagens

Imagem	Achados histológicos compatíveis
Nódulo circunscrito	Lesões fibroepiteliais nodulares (fibroadenoma, tumor <i>phyllodes</i> , lesões papilíferas intraductais ou intracísticas) Hamartoma Cisto apócrino Hiperplasia pseudo-angiomatosa do estroma Linfonodo intramamário Sarcomas Linfoma Metástase Alguns carcinomas (medular, coloide, metaplásico) Carcinomas invasivos, maioria Cicatriz fibrosa
Nódulo espiculado	Lesões papilíferas, incluindo cicatriz radiada Mastites Lobulite linfocitária esclerosante Fibromatose Tumor de células granulares Adenose esclerosante
Lesão sólido-cística	Agregado de microcistos apócrinos Lesões papilíferas intracísticas ou intraductais Carcinomas de alto grau com necrose Tumor <i>phyllodes</i> e sarcomas
Microcalcificações	Hiperplasias atípicas (ductal, colunar e apócrina) Neoplasia intraepitelial lobular com microcalcificações Adenoses (microcística e esclerosante) Carcinoma ductal <i>in situ</i>
Assimetrias	Mastites Esteatonecrose Mucocele Carcinomas Fibroadenoma hialinizado Cistos apócrinos Mucocele
Distorções	Involução irregular da mama com tecido mamário normal Adenoses Alterações fibrocísticas Mastites Carcinoma lobular infiltrativo Cicatriz radiada/lesão papilífera esclerosante Cicatriz fibrosa Carcinoma lobular infiltrativo Mastites Mucocele
Realces	Carcinomas, invasivos e <i>in situ</i> Lesões papilíferas Mastites Hiperplasia pseudoangiomatosa do estroma

Em algumas situações, entretanto, existe dificuldade na correlação histo-radiológica, tais como, em hamartomas, hiperplasia epitelial sem atipias, fibroesclerose, neoplasia intraepitelial lobular. A definição desses casos depende de discussão da equipe e deve considerar a inclusão de novas imagens, seja pelo mesmo método, seja agregando informações de outros.

Exame imunoistoquímico

O exame imunoistoquímico complementa o exame histológico convencional, não somente fornecendo informações prognósticas e preditivas nos casos de câncer, como visto acima, mas também na definição diagnóstica.

No diagnóstico, as indicações mais comuns são: definição de atipia e classificação das lesões proliferativas intraductais, tipagem histológica de carcinomas *in situ*, diagnóstico de invasão em carcinomas *in situ*, determinação de sítio primário em neoplasias pouco diferenciadas na mama ou neoplasias que se manifestam em linfonodos regionais, ou ainda em neoplasias em outros locais em pacientes com história prévia de câncer de mama.

Embora muitas das alterações mamárias tenham seu diagnóstico suficientemente acurado em exames histológicos convencionais, somente com cortes corados pela hematoxilina-eosina, algumas vezes surgem situações de difícil decisão em que a complementação com o exame imunistoquímico se impõe⁹.

Lesões epiteliais proliferativas intraductais frequentemente se associam a dificuldades na sua caracterização como hiperplasia ductal usual ou neoplasia intraepitelial ductal (hiperplasia atípica/carcinoma ductal *in situ*). Nestas situações utilizamos a pesquisa simultânea de marcadores luminiais, como o receptor de estrogênio e citoqueratinas 8 ou 18, com marcadores basais, como as citoqueratinas 5 e 14. As lesões hiperplásicas tem padrão misto de marcação, enquanto que as proliferações clonais mostram perda das citoqueratinas basais a favor do padrão luminal, desde focal (hiperplasia atípica) até difusa (carcinoma ductal *in situ*).

Frente aos carcinomas *in situ* sólidos de baixo grau, para definição do tipo, deve se agregar a pesquisa da molécula de adesão e-caderina, ausente nas neoplasias lobulares. Ainda nos carcinomas ductais *in situ*, podemos agregar a pesquisa da citoqueratina basal 5, pois sua expressão em casos de neoplasia intraductal inquestionável se associa ao baixo risco de invasão¹⁰. A definição de invasão estromal, sobretudo em casos de carcinomas *in situ* que envolvem lesões esclerosantes, é geralmente muito difícil. Nesses casos, utilizamos a pesquisa de marcadores de células mioepiteliais, presentes ao redor dos espetos envolvidos por neoplasia *in situ*, mas ausentes nas áreas de invasão. Entre esses marcadores temos a calponina, proteína

p63, CD10 e actina de músculo liso. Esses mesmos marcadores são úteis na caracterização e classificação das lesões papilíferas complexas, já que eles tendem a desaparecer nas áreas de carcinoma.

A pesquisa de carcinoma mamário em linfonodos ou outros locais de metástase pode ser implementada por marcadores imunoistoquímicos. Os carcinomas mamários têm geralmente expressão de citoqueratina 7 e são negativos para citoqueratina 20. Este perfil é o mesmo dos carcinomas ginecológicos, mas é diferente das neoplasias colorretais que são CK20-positivas. Os carcinomas mamários podem expressar receptores de estrogênio e de androgênio, além das proteínas *Gross Cystic Disease Fluid Protein-15* (GCDFP-15) e da mamoglobina.

Carcinomas serosos tuboovarianos expressam WT-1 e PAX-8, enquanto que as neoplasias mamárias podem raramente expressar WT-1, mas são negativas para PAX-8. Melanomas expressam proteína S-100, eventualmente positivas em carcinomas mamários, mas mostram outras moléculas como o HMB-45 e Melan-A. Carcinomas primários do pulmão expressam TTF-1, ausente na mama. O importante é sempre combinar vários marcadores na identificação do perfil da neoplasia de interesse.

A utilização do perfil prognóstico e preditivo dos carcinomas de mama é obrigatória e inclui a pesquisa dos receptores de estrogênio e progesterona, do HER-2, e do marcador de atividade proliferativa Ki-67. Estes resultados podem ser associados ao perfil molecular genético. Os critérios para classificação, embora não homogêneos, diferem muito pouco da realidade e são muito úteis nas decisões terapêuticas. A recomendação de Saint Gallen é a mais utilizada¹¹ (Tabela 4).

Devemos fazer ressalva aos casos com baixa expressão de receptores hormonais (1–10%), visto que 88% dos tumores deste grupo apresentam perfil genético basal-símile ou HER2-enriquecido¹². Outra ressalva deve ser feita em relação aos carcinomas com perfil imunoistoquímico de tipo luminal A, mas com baixa expressão de receptor de progesterona, já que eles correspondem ao perfil luminal B, independentemente da fração de Ki-67¹³.

Tabela 4. Classificação molecular baseada no perfil imunoistoquímico¹¹

Subtipo	RE/RP	HER2	Ki-67
Luminal A	Positivo	Negativo	<14%
Luminal B, HER2-negativo	Positivo	Negativo	≥14% ou RP <20%
Luminal B, HER2-positivo	Positivo	Positivo	Qualquer
HER2, enriquecido	Negativo	Positivo	Qualquer
Triplo-negativo	Negativo	Negativo	Qualquer

Referências

1. Ellis IO, Humphreys S, Michell M, Pinder SE, Wells CA, Zakhour HD, et al. Best Practice No 179. Guidelines for breast needle core biopsy handling and reporting in breast screening assessment. *J Clin Pathol.* 2004;57(9):897-902.
2. Rakha EA, Lee AH, Reed J, Murphy A, El-Sayed M, Burrell H, et al. Screen-detected malignant breast lesions diagnosed following benign (B2) or normal (B1) needle core biopsy diagnoses. *Eur J Cancer.* 2010;46(10):1835-40.
3. Rakha EA, Lee AH, Jenkins JA, Murphy AE, Hamilton LJ, Ellis IO. Characterization and outcome of breast needle core biopsy diagnoses of lesions of uncertain malignant potential (B3) in abnormalities detected by mammographic screening. *Int J Cancer.* 2011;129(6):1417-24.
4. Rakha EA, Ho BC, Naik V, Sen S, Hamilton LJ, Hodi Z, et al. Outcome of breast lesions diagnosed as lesion of uncertain malignant potential (B3) or suspicious of malignancy (B4) on needle core biopsy, including detailed review of epithelial atypia. *Histopathology.* 2011;58(4):626-32.
5. Uzan C, Mazouni C, Ferchiou M, Ciolovan L, Balleyguier C, Mathieu MC, et al. A Model to Predict the Risk of Upgrade to Malignancy at Surgery in Atypical Breast Lesions Discovered on Percutaneous Biopsy Specimens. *Ann Surg Oncol.* 2013;20(9):2850-7.
6. Chen X, Yuan Y, Gu Z, Shen K. Accuracy of estrogen receptor, progesterone receptor, and HER2 status between core needle and open excision biopsy in breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;134(3):957-67.
7. James TA, Mace JL, Virnig BA, Geller BM. Preoperative needle biopsy improves the quality of breast cancer surgery. *J Am Coll Surg.* 2012;215(4):562-8.
8. Schulz S, Sinn P, Golatta M, Rauch G, Junkermann H, Schuetz F, et al. Prediction of underestimated invasiveness in patients with ductal carcinoma in situ of the breast on percutaneous biopsy as rationale for recommending concurrent sentinel lymph node biopsy. *Breast.* 2013;22(4):537-42.
9. Lee AH. Use of immunohistochemistry in the diagnosis of problematic breast lesions. *J Clin Pathol.* 2013;66(6):471-7.
10. Aguiar FN, Mendes HN, Cirqueira CS, Bacchi CE, Carvalho FM. Basal cytokeratin as a potential marker of low risk of invasion in ductal carcinoma in situ. *Clinics (São Paulo).* 2013;68(5):638-43.
11. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol.* 2013;24(9):2206-23.
12. Deyarmin B, Kane JL, Valente AL, van Laar R, Gallagher C, Shriver CD, et al. Effect of ASCO/CAP guidelines for determining ER status on molecular subtype. *Ann Surg Oncol.* 2013;20(1):87-93.
13. Prat A, Cheang MC, Martín M, Parker JS, Carrasco E, Caballero R, et al. Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer. *J Clin Oncol.* 2013;31(2):203-9.