Universidade de Aveiro
2017

Departamento de Engenharia de Materiais e Cerâmica

Mónica Alexandra Casanova da Silva Martins

Metabolismo do cancro da mama: estudos in vivo e in vitro com ^{18}F-FDG

Breast cancer metabolism: in vivo and in vitro studies with ^{18}F-FDG

Universidade de Aveiro
2017

Departamento de Engenharia de Materiais e Cerâmica

Mónica Alexandra Casanova da Silva Martins

Metabolismo do cancro da mama: estudos in vivo e in vitro com ^{18}F-FDG

Breast cancer metabolism: in vivo and in vitro studies with ^{18}F-FDG

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Materiais e Dispositivos Biomédicos, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Maria Filomena Botelho, Professora Catedrática da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, co-orientação do Professor Doutor João Manuel Pedroso de Lima, Professor Associado Convidado da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, co-orientação da Professor Doutora Maria Helena Figueira Vaz Fernandes, Professora Associada do Departamento de Engenharia de Materiais e Cerâmica da Universidade de Aveiro, e tutoria da Doutora Ana Margarida Abrantes, Assistente da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

A minha Mãe, meu exemplo de força, coragem, bondade e cumplicidade;

Ao meu Pai, por estar sempre presente;

Às minhas Irmãs… minha expressão preferida;

À Joaninha e ao Tomás, por sem saberem, me mostrarem, que há sempre um bocadinho mais de amor para sentir;

Ao Hélio, por ser a inspiração que faltava…

"Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que quiser. Mas tenho que querer o que for. O êxito está em ter êxito, e não em ter condições de êxito. Condição de palácio tem qualquer terra larga, mas onde estará o palácio se não o fizerem ali?"

Fernando Pessoa (Livro do Desassossego)

o júri

Presidente

Professor Doutor José Maria da Fonte Ferreira

Professor Associado com Agregação do Departamento de Engenharia de Materiais e Cerâmica da Universidade de Aveiro

Professor Doutor Francisco Luís Maia Mamede Pimentel

Professor Catedrático Convidado

Professora Doutora Maria Filomena Rabaça Roque Botelho

Professora Catedrática da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

agradecimentos

Não poderia deixar de agradecer a todos aqueles que me ajudaram a enfrentar todos os desafios e a transpor as barreiras que foram surgindo ao longo deste percurso.

À Professora Doutora Maria Filomena Botelho, minha orientadora, pela oportunidade de ingressar no fascinante mundo da investigação, pelo encorajamento, paciência e por toda a frontalidade e genuinidade transmitidas ao longo de todo este tempo de trabalho. Obrigada por confiar em mim.

Ao Professor Doutor João Manuel Pedroso de Lima, meu co-orientador, por todo o realismo que sempre me foi transmitindo, com dedicação e entusiasmo.

À Professora Doutora Maria Helena Fernandes pelo incentivo, ânimo e incentivo dados a este trabalho... Obrigada por sempre me ter dito "Sim!"

À Doutora Ana Margarida Abrantes pela sua tutoria, pelo apoio, pela atenção e cuidado, mesmo em assuntos extra-profissionais, pela oportunidade de discutir ideias, pelos diferentes pontos de vista, pelas sugestões imprescindíveis, pelas longas conversas de reflexão sobre questões fundamentais, pela agradável convivência e pelo grandíssimo modelo, como pessoa e pesquisadora.

Ao Dr. Rodolfo Silva pelas intensas discussões e pelos momentos de debate, pelas vastas conversas, pela meditação companheira, pela ponderação, carinho e reflexão, pelas sugestões, estímulo e conselhos insubstituíveis, pela inesquecível convivência e pelo exemplo de grandeza como ser humano e profissional. Muito obrigada pelo despertar de percepções, emoções e pelo profundo (crer) querer!

Ao serviço de Medicina Nuclear dos Hospitais da Universidade de Coimbra, pela disponibilização das sobras de ^{18}F-FDG, que permitiram a realização de parte dos estudos in vitro incluídos neste trabalho.

À Dra. Paula Lapa, pela capacidade de transmissão "quase espontânea" de conhecimentos, por me permitir mudar de ideias e por se permitir mudar de ideias. Obrigada pelo seu profundo conhecimento.

A todo o pessoal da equipa de investigação da Biofísica/IBILI, Carolina, Catarina, Sónia, Ana, Mafalda, João Casalta e Maria João que, ao longo de todo este tempo, partilharam comigo horas de trabalho árduo e resultados mais ou menos (in)esperados. Obrigada por tão atenciosamente me terem auxiliado sempre que precisei de colaboração.

A todo o corpo técnico do Serviço de Medicina Nuclear dos Hospitais da Universidade de Coimbra, que "seguraram as pontas" sempre que foi preciso, particularmente à Técnica Coordenadora, Isilda Ferreira, pelo seu cuidado, carinho e consideração.

À (agora) Doutora Ana Catarina Marques, minha "companheira de armas" nesta jornada. Obrigada pelas horas de estudo e de conversa, pelos projectos, idealizados e/ou materializados, pelos jantares, pelos novos amigos e "pelas horas bem passadas na "Casa lá ao Sul"".

À Emília Ferreira, Janine Rodrigues, Margarida Arnaldo, Georgina Correia, Dra. Eugénia Rovira, Eng. Jorge Isidoro, Dr. Rui Ferreira, por me mostrarem novas formas de amizade e de dizer "Quero-te muito bem e acredito em ti! Acredita tu também!"

À Margarida Parracho, pelos incessantes "Já escreveste a tua tese?!", pelo carinho, dedicação e confiança… Obrigada pela amizade verdadeira!

À Celeste Teixeira, por nunca deixar de acreditar no meu valor e por mo recordar, recorrentemente. Obrigada pela tua amizade e por me deixares fazer parte do teu mundo!

Às minhas Amigas (e aos Amigos) "lá de fora", pela vida em conjunto, pelos bons (e maus) momentos, pelo apoio e amizade e pela compreensão, por todas as minhas ausências.

Ao Nuno, pelo longo percurso percorrido, pelo crescimento em conjunto, pela imensa reflexão, por seres imensamente genuíno, pela cumplicidade, pelo exemplo de inteligência, raciocínio e perspicácia.

Às minhas Irmãs, por todas as recordações e pela esperança, pelo riso e pelas lágrimas partilhadas nos momentos mais bonitos e nos mais difíceis.

À minha Mãe, "Muito… Muito Obrigada!", por tudo o que fizeste por mim e pelas minhas Irmãs, frequentemente esquecendo-te de ti e por, apesar das inimagináveis dificuldades, nunca me teres negado ajuda, fechado nenhuma porta e, sobretudo, por nunca teres cobrado nada de volta. São tuas, todas as minhas (nossas) pequenas ou grandes vitórias.

Ao Hélio, pelo desabrochar da parte que mais gosto de mim mesma, pelo amor incondicional, pelo imenso carinho e sorriso constante, pela ausência de julgamento ou preconceito… e por tudo o que está para vir.

palavras-chave

Cancro da mama, estrogénio, progesterona, HER2, triplas negativas, linha celular, captação, ^{18}F-FDG, glicose, PET, metabolismo glicolítico, SUV, in vivo, in vitro, citometria de fluxo, GLUT.

resumo

O cancro da mama é frequentemente relacionado a uma elevada variabilidade no que se refere à captação de ^{18}F-FDG, resultando em amplas variações nos valores de sensibilidade e especificidade dos estudos PET. Estas diferenças restringem a utilização da PET na avaliação clínica de doentes com cancro da mama. O objectivo deste trabalho é determinar o padrão de captação de ^{18}F-FDG em linhas celulares de cancro da mama, que apresentam diferenças na expressão de receptores de estrogénio, progesterona e HER2 e estabelecer correlação com os perfis de expressão de GLUT's 1 e 3 de cada uma das linhas celulares utilizadas. Este estudo pretende ainda comparar estes resultados com os valores de standardized uptake value (SUV) determinados em estudos PET com ^{18}F-FDG de doentes com cancro da mama cuja caracterização histológica apresente uma correspondência com a das linhas celulares estudadas in vitro. Foram utilizadas 3 linhas celulares humanas de cancro da mama, MCF-7, HCC1806 e HCC1954. As MCF-7 apenas expressam receptores de estrogénio, as HCC1806 não apresentam expressão nem de receptores hormonais, nem de HER2/neu (são denominadas de triplas negativas) e as HCC1954 apenas sobrexpressam HER2/neu. Foram realizados estudos in vitro de captação de ^{18}F-FDG nestas células e, por citometria de fluxo, foram determinados os respectivos perfis de expressão de GLTU-1 e GLUT-3. Adicionalmente, foram determinados através de análise retrospectiva, os valores de SUV de 51 estudos de ^{18}F-FDG PET de 46 doentes, realizados entre Outubro de 2006 e Setembro de 2010. Os critérios de inclusão foram a presença de captação mamária de ^{18}F-FDG em tumores primitivos ou em recidiva da doença, bem como a manifestação das mesmas características histológicas das apresentadas pelas linhas celulares estudadas in vitro. Relativamente aos perfis de expressão de proteínas transportadoras de membrana, as HCC1806 e as HCC1954 apresentam maior expressão membranar do que as MCF-7. Contudo, relativamente à captação de ^{18}F-FDG, as MCF-7 apresentaram os maiores valores de percentagem de captação ao longo do tempo. Por outro lado, a linha celular tripla negativa (HCC1806) apresentou um perfil de captação in vitro constante e reduzido (<1,5%), ao longo do tempo. Comparativamente, a captação in vivo de ^{18}F-FDG foi superior (em relação aos restantes tipos celulares) para os tumores triplos negativos (SUV_{max} médio =12,6 ± 7,0). Tumores triplos negativos e tumores expressando receptores de estrogénio e HER2, mas negativos para receptores de progesterona apresentaram valores semelhantes de captação de ^{18}F-FDG (respectivamente, SUV_{max} médio =5,2 ± 2,5 e SUV_{max} médio =6,6 ± 3,0). Os valores de SUV aparentam aumentar com a diminuição de grau de diferenciação de Bloom. Verificou-se a existência de uma correlação negativa entre a captação in vitro de ^{18}F-FDG e a expressão de GLUT-1 e 3 nas referidas linhas celulares. Foi observado o mesmo tipo de correlação entre a captação in vivo de ^{18}F-FDG e o grau de diferenciação tumoral, que se relaciona com o grau de agressividade destes tumores. No entanto, as diferenças encontradas nos perfis de captação entre estudos in vivo e in vitro de tumores da mama, requerem pesquisa adicional.

keywords

Breast cancer, estrogen, progesterone, HER2/neu, triple negative, cell line, uptake, ^{18}F-FDG, glucose, PET, glycolytic metabolism, SUV, in vivo, in vitro, flow cytometry, GLUT.

abstract

Breast cancer shows considerable variability regarding ^{18}F-FDG uptake, resulting in large variations in sensitivity and specificity. These differences restrain PET's use in breast cancer. The purpose of this study is to determine the pattern of ^{18}F-FDG uptake in breast cancer cell lines, presenting different estrogen, progesterone and HER2 receptor's expressions and to set a correlation with GLUT's 1 and 3 profiles for each of these cell lines. This study also intends to compare these results with standardized uptake values (SUVs) determined in ^{18}F-FDG PET scans of breast cancer patients whose histological disease types present a correspondence with the ones of the previously studied cell lines. Three different human breast cancer cell lines, MCF-7, HCC1806 and HCC1954, were used. MCF-7 only express estrogen receptors, HCC1806 cells present neither hormonal receptors nor HER2/neu (triple negative) and HCC1954 are positive for hormonal receptors, and overexpress HER2/neu (triple positive). ^{18}F-FDG uptake studies were performed with these three cell lines and GLUT-1 and GLUT-3 expressions were assessed by flow cytometry. In addition, SUVs of 51 ^{18}F-FDG PET scans from 46 patients, performed between October 2006 and September 2010, were retrospectively assessed. Inclusion criteria were the presence of breast 18F-FDG uptake in primary tumors or in local recurrence of the disease with the same histological features of the ones presented by the considered cell lines studied in vitro. HCC1806 and HCC1954 cells presented higher GLUT-1 and GLUT-3 expressions than MCF-7. However, concerning to ^{18}F-FDG uptake, MCF-7 cells disclosed the highest percentage values over time. On the other hand, the triple-negative cell line (HCC1806) presented constant and low (<1.5 %) in vitro uptake profile. Comparatively, 18F-FDG uptake in PET scans, was higher in triple negative breast cancer tumors (mean SUV_{max}=12.6 ± 7.0). Triple positive tumors and tumors expressing estrogen receptors and HER2 but negative for progesterone receptors, presented similar 18F-FDG uptake values (respectively mean SUV_{max}=5.2 ± 2.5 and mean SUVmax=6.6 ± 3.0). SUVs also increased with decreased Bloom differentiation degree. There was a negative correlation between ^{18}F-FDG uptake and GLUT-1 and -3 expressions in the referred cell lines. The same type of correlation was observed between in vivo ^{18}F-FDG uptake and tumor differentiation degree, which agrees with the aggressiveness grade of these tumors. Nevertheless, differences found in uptake profiles, between in vivo and in vitro studies of breast tumors, warrant further research.

Índice

Índice Pág. IX

Índice de Figuras Pág. XII
Índice de Tabelas Pág. XIX
Índice de Anexos Pág. XXI
Lista de Acrónimos Pág. XXII

1. Introdução Pág. 31

2. Caracterização da Doença Oncológica Pág. 34

3. O Cancro da Mama Pág. 45
- 3.1 Epidemiologia Pág. 45
- 3.2 Anatomia e Fisiologia Normais da Mama Pág. 49
- 3.3 Factores de Risco Pág. 51
  - 3.3.1 Factores Endócrinos e Reprodutivos Pág. 52
  - 3.3.2 História Familiar Pág. 53
  - 3.3.3 Factores Demográficos e Culturais Pág. 54
  - 3.3.4 Factores Ambientais Pág. 54
- 3.4 Classificação do Cancro da Mama Pág. 55
  - 3.4.1 Classificação Histológica Pág. 55
  - 3.4.2 Classificação Molecular Pág. 63
- 3.5 Biologia Tumoral – Factores Prognósticos e Predictivos Pág. 66
  - 3.5.1 Factores Prognósticos Pág. 68
  - 3.5.2 Factores Prognósticos e Predictivos Pág. 72
- 3.6 Estadiamento Tumoral Pág. 74
- 3.7 Meios Complementares de Diagnóstico Pág. 81
  - 3.7.1 Mamografia Pág. 81
  - 3.7.2 Ecografia Pág. 81
  - 3.7.3 Biópsia Pág. 81
  - 3.7.4 Ressonância Magnética (MRI) Pág. 82
  - 3.7.5 18F-FDG PET/CT Pág. 82
- 3.8 Abordagens Terapêuticas Pág. 85
  - 3.8.1 Cirurgia Pág. 85

3.8.2 Radioterapia Pág. 88
3.8.3 Terapêutica Sistémica Adjuvante: Quimioterapia e Hormonoterapia Pág. 88
3.8.4 Terapêutica Sistémica Primaria Pág. 90

4. Mecanismos de Captação da Glicose Pág. 91
4.1 Glicólise Pág. 94
4.2 Doença Oncológica e Actividade Celular Metabólica Pág. 97
4.3 ^{18}F-FDG e Metabolismo Glicolítico Pág. 102
4.4 Transportadores de Membrana e Metabolismo Glicolítico Pág. 107
4.4.1 Transportadores GLUT Envolvidos no Cancro da Mama Pág. 111
4.5 Mecanismos Moleculares Reguladores da Glicólise e dos Transportadores de Membrana Pág. 114
4.6 Actividade Enzimática no Metabolismo Glicolítico Pág. 119

5. Objectivos Pág. 123
5.1 Objectivos Específicos Pág. 123

6. Materiais e Métodos Pág. 125
6.1 Estudos *in-vitro* Pág. 125
6.1.1 Caracterização das Linhas Celulares Utilizadas Pág. 126
6.1.2 Culturas Celulares Pág. 130
6.1.3 Estudos de Captação com ^{18}F-FDG Pág. 133
6.1.4 Estudos de Viabilidade Celular Pág. 134
6.2 Citometria de Fluxo Pág. 137
6.2.1 Quantificação da Expressão Membranar de GLUTs Pág. 139
6.2.2 Quantificação da Expressão Citoplasmática de GLUTs Pág. 140
6.2.3 Quantificação do KI-67 Pág. 140
6.2.4 Quantificação da Expressão de Receptores Hormonais Pág. 141
6.2.5 Quantificação da Expressão de HER2 Pág. 142
6.3 Estudos Clínicos *in vivo* Pág. 143
6.3.1 Estudos PET Pág. 149
6.3.2 Cálculo dos SUV Pág. 155
6.3.3 Imunohistoquímica Pág. 156
6.3.4 Consulta dos Processos Clínicos Pág. 162
6.4 Análise Estatística Pág. 163

7. Resultados Pág. 164
7.1 Estudos Pré Clínicos - Estudos *in vitro* Pág. 164
7.1.1 Captações Pág. 164
7.1.2 Citometria Pág. 171
7.2 Estudos Clínicos Pág. 186
7.2.1 Casos Clínicos Pág. 187
Caso 1 Pág. 187
Caso 2 Pág. 189
Caso 3 Pág. 192
7.2.2 Resultados Pág. 195

8. Discussão Pág. 205

9. Conclusão Pág. 224

10. Referências Bibliográficas Pág. 226

11. Anexos Pág. 260

Índice de Figuras

Figura 1.	Distribuição das taxas padronizadas por idade de incidência e mortalidade, por tipo de cancro, em 2008, em todo o mundo/100,000.	Pág. 33
Figura 2.	Distribuição das taxas padronizadas de incidência e mortalidade, por tipo de cancro em 2008, em regiões desenvolvidas e subdesenvolvidas de todo o mundo	Pág. 34
Figura 3.	Distribuição das taxas estimadas de incidência e mortalidade, por tipo de cancro, em 2008, em Portugal/100,000.	Pág. 35
.	Alterações fundamentais características da doença oncológica e factores facilitadores.	Pág. 36
Figura 5.	Características emergentes da doença oncológica e especificidades possibilitadoras.	Pág. 41
Figura 6.	Distribuição mundial da incidência de neoplasias malignas, por sexo e por tipo de cancro.	Pág. 44
Figura 7.	Taxas de morte padronizadas, por neoplasia maligna da mama em mulheres, por 100,000.	Pág. 45
Figura 8.	Distribuição, por tipo de cancro, das taxas estimadas de incidência e mortalidade, padronizadas por idade, em Portugal e em ambos os sexos.	Pág. 45
Figura 9.	Curvas de distribuição específica por idade do cancro da mama. Tendência de incidência e mortalidade/100,000 habitantes. **(A)** em Portugal; **(B)** na União Europeia; **(C)** em todo o mundo.	Pág. 47
Figura 10.	A glândula mamária.	Pág. 49
Figura 11.	Acção oncogénica dos estrogénios.	Pág. 52
Figura 12.	Proposta evolução histológica da progressão tumoral no epitélio mamário.	Pág. 55
Figura 13.	Microecologia de lesões de carcinoma ductal *in situ* (CDIS) da mama.	Pág. 57
Figura 14.	Eventos biopatológicos associados ao carcinoma ductal *in situ* e ao carcinoma ductal invasivo.	Pág. 59
Figura 15.	**(A)** Processos de evolução tumoral no epitélio mamário **(B)** Carcinogénese mamária.	Pág. 60
Figura 16.	Perfis de expressão génica do cancro da mama. Identificação de 4 subtipos moleculares distintos: (i) ER+/luminal; (ii) HER2+/ER-; (iii) ER-/basal; (iv) tumores *normal-like.*	Pág. 64
Figura 17.	Factores prognósticos e predictivos.	Pág. 66

Figura 18.	Cadeias de drenagem linfática regional mamária.	Pág. 67
Figura 19.	Estadiamento anatómico do cancro da mama.	Pág. 76
Figura 20.	**(A)** Cascata metastática. **(B)** Principais etapas da metastização.	Pág. 77
Figura 21.	Abordagens cirúrgicas no tratamento do cancro da mama.	Pág. 85
Figura 22.	Alvos terapêuticos da doença oncológica.	Pág. 87
Figura 23.	Metabolismo da glicose em células de mamíferos.	Pág. 90
Figura 24.	Respiração aeróbia.	Pág. 90
Figura 25.	Representação esquemática das diferenças entre fosforilação oxidativa, glicólise anaeróbia e glicólise aeróbia (efeito de *Warburg*).	Pág. 91
Figura 26.	Imagem de ^{18}F-FDG PET para avaliação funcional e estadiamento de lesão lítica do sacro, detectada em cintigrama ósseo.	Pág. 92
Figura 27.	Sequência bioquímica da glicólise.	Pág. 93
Figura 28.	Sequência bioquímica da fermentação láctica.	Pág. 94
Figura 29.	Vias metabólicas activas em células proliferativas.	Pág. 99
Figura 30.	**(A)** Modelo de uma molécula de glicose. **(B)** Modelo da molécula de [18]Flúor-fluoro-2-deoxi-glicose.	Pág. 101
Figura 31.	**(A)** Metabolismo celular da glicose em células normais. **(B)** Metabolismo celular da ^{18}F-FDG em células normais. **(C)** Metabolismo celular da ^{18}F-FDG em células normais *versus* células neoplásicas.	Pág. 103
Figura 32.	Projecção de máxima intensidade (MIP) de imagem de corpo inteiro gerada num estudo PET.	Pág. 104
Figura 33.	Constituintes da membrana celular.	Pág. 106
Figura 34.	Estrutura dos transportadores GLUT-4.	Pág. 109
Figura 35.	Mecanismo de translocação de GLUT-4 de vesículas localizadas no espaço intracelular para a membrana plasmática, sob estímulo da insulina.	Pág. 111
Figura 36.	Metabolismo e produção intratumoral de estrogénio no carcinoma humano da mama.	Pág. 114
Figura 37.	Glicólise e reprogramação metabólica em células cancerígenas em proliferação.	Pág. 120

Figura 38.	Micrografia de linha celular MCF-7 **(A)** Amplificação a 10x; **(B)** Amplificação a 20x.	Pág. 214
Figura 39.	Cariótipo espectral (SKY) representativo da linha celular MCF-7.	Pág. 125
Figura 40.	Cariótipo espectral (SKY) representativo da linha celular HCC1806.	Pág. 126
Figura 41.	Cariótipo espectral (SKY) representativo da linha celular HCC1954.	Pág. 127
Figura 42.	Mapa genómico da linha celular HCC1954.	Pág. 127
Figura 43.	Superfície de adesão utilizada em cultura celular. **(A)** Presença de vermelho de fenol na cultura celular. **(B)** *T-flasks* de plástico utilizados para propagação celular.	Pág. 129
Figura 44.	Células MCF-7 em cultura.	Pág. 130
Figura 45.	Células HCC1806 em cultura.	Pág. 131
Figura 46.	Células HCC1954 em cultura.	Pág. 131
Figura 47.	Hemocitómetro ou câmara de Neubauer.	Pág. 133
Figura 48.	Representação dos quadrantes existentes na lâmina do hemocitómetro.	Pág. 133
Figura 49.	Esquematização dos procedimentos de determinação da viabilidade celular pelo método de exclusão com azul de tripano.	Pág. 134
Figura 50.	Instrumentação de um citómetro de fluxo.	Pág. 135
Figura 51.	KI-67 PE: sc-23900 PE. Análise por citometria de fluxo da expressão intracelular de células *HeLa* fixas e permeabilizadas.	Pág. 139
Figura 52.	Reacção de substituição nucleófila envolvida na síntese de ^{18}F-FDG.	Pág. 142
Figura 53.	Decaimento do protão com emissão de um neutrino e de um positrão, que se aniquila após colisão com um electrão, produzindo dois fotões gama.	Pág. 149
Figura 54.	Anel de um *scanner* rodeado por detectores de cintilação acoplados a fotomultiplicadores.	Pág. 150
Figura 55.	Fases do processo de aquisição de um estudo PET.	Pág. 151
Figura 56.	Classificação molecular do carcinoma da mama através de IHQ.	Pág. 154

Figura 57.	Determinação do ER, por IHC, num caso de carcinoma da mama.	Pág. 159
Figura 58.	Marcação de PR, por IHC, num caso de carcinoma da mama (HRP, 400x).	Pág. 159
Figura 59.	Marcação de HER-2, por IHC (HRP, 100x).	Pág. 160
Figura 60.	Distribuição temporal da percentagem de captação de ^{18}F-FDG e respectivas barras de erro, pela linha celular MCF-7, em ambientes de LG e HG.	Pág. 164
Figura 61.	Distribuição temporal da percentagem de captação de ^{18}F-FDG e respectivas barras de erro, pela linha celular HCC1954, em ambientes de LG e HG.	Pág. 164
Figura 62.	Distribuição temporal da percentagem de captação de ^{18}F-FDG e respectivas barras de erro, pela linha celular HCC1954, em ambientes de LG e HG.	Pág. 165
Figura 63.	Distribuição temporal da percentagem de captação de ^{18}F-FDG e respectivas barras de erro, pelas linhas celulares MCF-7, HCC1954 e HCC1806, em ambiente de LG.	Pág. 167
Figura 64.	Distribuição temporal da percentagem de captação de ^{18}F-FDG e respectivas barras de erro, pelas linhas celulares MCF-7, HCC1954 e HCC1806, em ambiente de HG.	Pág. 167
Figura 65.	Diferenças obtidas na expressão de GLUT-1 (M) na linha celular HCC1806, estudada em HG e LG, pelo teste de Mann-Whitney.	Pág. 171
Figura 66.	Diferenças obtidas na expressão de GLUT-1 (C) na linha celular HCC1806, estudada em HG e LG, pelo teste de Mann-Whitney.	Pág. 171
Figura 67.	Variação da expressão de GLUT-1 (M) entre linhas celulares em condições de HG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$.	Pág. 173
Figura 68.	Variação da expressão de GLUT-5 (C) entre linhas celulares em condições de HG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$.	Pág. 173
Figura 69.	Variação da expressão de GLUT-1 (M), entre linhas celulares em, condições de LG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$.	Pág. 174
Figura 70.	Variação da expressão de GLUT-1 (C), entre linhas celulares, em condições de LG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística	Pág. 174

	está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.	
Figura 71.	Variação da expressão de GLUT-3 (M), entre linhas celulares em, condições de LG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.	Pág. 175
Figura 72.	Variação da expressão de GLUT-3 (C), entre linhas celulares, em condições de LG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.	Pág. 175
Figura 73.	Variação da expressão de GLUT-12 (M), entre linhas celulares em, condições de LG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.	Pág. 176
Figura 74.	Variação da expressão de GLUT-12 (C), entre linhas celulares, em condições de LG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001. Estes resultados não apresentam diferenças estatisticamente significativas.	Pág. 176
Figura 75.	Comparação da expressão membranar de GLUT-1, GLUT-3, GLUT-5, GLUT-12 entre linhas celulares, em condições de HG.	Pág. 177
Figura 76.	Comparação da expressão membranar de GLUT-1, GLUT-3, GLUT-5, GLUT-12 entre linhas celulares, em condições de LG.	Pág. 177
Figura 77.	Variação da expressão de ER na linha celular MCF-7, consoante variação de condições de concentração de glicose no meio de cultura.	Pág. 179
Figura 78.	Variação da expressão de ER, entre linhas celulares em, condições de HG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 7 ensaios. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.	Pág. 180
Figura 79.	Variação da expressão de HER2, entre linhas celulares em, condições de HG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 6 ensaios. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.	Pág. 181
Figura 80.	Variação da expressão de HER2, entre linhas celulares em, condições de LG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 3 ensaios. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.	Pág. 181

Figura 81.	Variação da expressão de KI-67, entre linhas celulares, em condições de HG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 5 ensaios. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$.	Pág. 183
Figura 82.	Variação da expressão de KI-67, entre as linhas celulares HCC1806 e MCF-7, em condições de HG, de acordo com o teste de Mann-Whitney.	Pág. 183
Figura 83.	Variação da expressão de KI-67, entre as linhas celulares HCC1806 e HCC1954, condições de HG, de acordo com o teste de Mann-Whitney.	Pág. 184
Figura 84.	Estudo PET de corpo inteiro com ^{18}F-FDG. Exame para restadiamento de recidiva de carcinoma da mama préviamente tratado com cirurgia e quimioterapia. Imagens adquiridas 60 min. após administração endovenosa de 9,5 mCi de radiofármaco.	Pág. 186
Figura 85.	Corte axial de estudo tomográfico de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para restadiamento de recidiva de carcinoma da mama.	Pág. 186
Figura 86.	Corte axial da imagem de fusão de estudos tomográficos, por PET e por CT, efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para restadiamento de recidiva de carcinoma da mama.	Pág. 187
Figura 87.	Corte transversal da imagem de estudo tomográfico por tomografia de emissão de positrões, efectuado no contexto de estudo de PET/CT para restadiamento de recidiva de carcinoma da mama e cálculo do SUV ($SUV_{máx} = 48,4$).	Pág. 187
Figura 88.	Estudo PET de corpo inteiro com ^{18}F-FDG. Exame para estadiamento inicial de carcinoma localmente avançado da mama direita. Imagens adquiridas 60 min. após administração endovenosa de 9,4 mCi de radiofármaco.	Pág. 188
Figura 89.	Corte transversal de estudo tomográfico de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para estadiamento inicial de carcinoma localmente avançado da mama direita.	Pág. 189
Figura 90.	Corte transversal da imagem de fusão de estudos tomográficos, por PET e por CT, efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para estadiamento inicial de carcinoma localmente avançado da mama direita.	Pág. 189
Figura 91.	Corte transversal da imagem de estudo tomográfico por PET efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para estadiamento inicial de carcinoma localmente avançado da mama direita. Cálculo do SUV ($SUV_{máx} = 62,5$) em corte transversal da imagem de estudo PET.	Pág. 190
Figura 92.	Estudo PET de corpo inteiro com ^{18}F-FDG. Exame para estadiamento inicial de alteração neoplásica da mama direita. Imagens adquiridas 60 min. após administração endovenosa de 6 mCi de radiofármaco.	Pág. 191

Figura 93.	Corte transversal de estudo tomográfico de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para estadiamento inicial de neoplasia mamária.	Pág. 191
Figura 94.	Corte transversal da imagem de fusão de estudos tomográficos, por tomografia de emissão de positrões e por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico, efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para estadiamento inicial de neoplasia mamária.	Pág. 192
Figura 95.	Corte transversal da imagem de estudo tomográfico por tomografia de emissão de positrões efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para estadiamento inicial de neoplasia mamária.	Pág. 192
Figura 96.	Cálculo do SUV ($SUV_{máx}$ = 1,6) em corte transversal da imagem de estudo PET.	Pág. 193
Figura 97.	Variação de valores médios de SUV, de acordo com o tipo histológico. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 2 ensaios. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$.	Pág. 196
Figura 98.	Variação de $SUV_{máx}$ entre tumores TNBC, (ER+,PR+,HER2-) e com expressão de HER2. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 9 amostras. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$.	Pág. 198
Figura 99.	Variação de $SUV_{méd}$ entre tumores TNBC, (ER+,PR+,HER2-) e com expressão de HER2. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 9 amostras. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$.	Pág. 198
Figura 100.	Resultados de teste de *Mann-Whitney* para avaliação da variação de $SUV_{máx}$ entre tumores com e sem expressão de ER.	Pág. 199
Figura 101.	Resultados de teste de *Mann-Whitney* para avaliação da variação de $SUV_{máx}$ entre tumores com e sem expressão de PR.	Pág. 199
Figura 102.	Resultados de teste de *Mann-Whitney* para avaliação da variação de $SUV_{máx}$ entre tumores com e sem expressão de HER2.	Pág. 200
Figura 103.	Variação de valores de $SUV_{máx}$ de acordo com o grau de diferenciação de Bloom.	Pág. 201
Figura 104.	Variação de valores de SUV (médios e máximos) de acordo com o tamanho do tumor. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 14 amostras. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$.	Pág. 202

Índice de Tabelas

Tabela 1.	Factores predisponentes para o cancro da mama e risco relativo associado.	Pág. 50
Tabela 2.	Classificação TNM para o cancro da mama.	Pág. 73
Tabela 3.	Estadiamento anatómico do cancro da mama – divisão em grupos prognósticos.	Pág. 75
Tabela 4.	Relação entre o estadiamento inicial do cancro da mama e a taxa de sobrevivência a 5 anos.	Pág. 78
Tabela 5.	Metabolismo energético predominante em diferentes tipos de células cancerígenas.	Pág. 100
Tabela 6.	Propriedades dos membros das famílias de transporte facilitado da glicose e de co-transporte de Na^+/glicose.	Pág. 107
Tabela 7.	Sumário das características físicas dos isótopos radioactivos com maior afinidade biológica e, por isso, mais usados em PET.	Pág. 142
Tabela 8.	Critérios de qualidade para a síntese da molécula de ^{18}F-FDG e frequência proposta para realização dos testes.	Pág. 146
Tabela 9.	Resumo dos valores de média e desvio padrão obtidos para a percentagem de captação de ^{18}F-FDG, da linha celular HCC1806, nas condições HG e LG, ao longo do tempo (0-240 min.)	Pág. 162
Tabela 10.	Resumo dos valores de média e desvio padrão obtidos para a percentagem de captação de ^{18}F-FDG, da linha celular MCF-7, nas condições HG e LG, ao longo do tempo (0-240 min.)	Pág. 163
Tabela 11.	Resumo dos valores de média e desvio padrão obtidos para a percentagem de captação de ^{18}F-FDG, da linha celular HCC1954, nas condições HG e LG, ao longo do tempo (0-240 min.)	Pág. 163
Tabela 12.	Resumo dos valores de *p* obtidos pela aplicação do teste de *Kruskal-Wallis*, para comparação dos resultados obtidos de captação de ^{18}F-FDG entre as diferentes linhas celulares, por tempo e por condição de HG e LG.	Pág. 165
Tabela 13.	Resumo dos valores de *p* obtidos pela aplicação do teste de *Mann-Whitney* para comparação dos resultados obtidos de captação de ^{18}F-FDG, para cada linha celular, nas condições HG e LG.	Pág. 166
Tabela 14.	Resultados de análises emparelhadas dos valores de captação de ^{18}F-FDG entre linhas celulares, por momento de recolha da amostra e por condição de HG e LG.	Pág. 168

Tabela 15.	Diferenças obtidas na expressão de transportadores de membrana na mesma linha celular quando estudada em HG e LG.	Pág. 170
Tabela 16.	Diferenças obtidas na expressão de transportadores de membrana entre linhas celulares quando estudadas em condições de HG e LG.	Pág. 171
Tabela 17.	Diferenças obtidas na expressão de ER, PR e HER2, para cada uma das linhas celulares utilizadas, quando avaliadas em condições de HG e LG.	Pág. 178
Tabela 18.	Diferenças obtidas na expressão de receptores hormonais e génicos, entre linhas celulares, quando estudadas em condições de HG e LG.	Pág. 179
Tabela 19.	Diferenças obtidas na expressão de KI-67 para a mesma linha celular, estudada em condições de HG e LG.	Pág. 182
Tabela 20.	Diferenças obtidas na expressão de KI-67, entre linhas celulares, em condições de HG e LG.	Pág. 182
Tabela 21.	Comparação de valores de SUV (médios e máximos) por tipo histológico de tumor (teste de *Games-Howell*).	Pág. 194
Tabela 22.	Comparação de valores de SUV (médios e máximos) por tipo molecular de tumor (teste de *Bonferroni*).	Pág. 197
Tabela 23.	Comparação de valores de SUV (médios e máximos) por grau tumoral (teste de *Games-Howell*).	Pág. 201
Tabela 24.	Comparação de 2 a 2 de valores de SUV (médios e máximos) por tamanho tumoral (comparações dois a dois).	Pág. 202
Tabela 25.	Comparação de 2 a 2 de valores de SUV (médios e máximos) por número de tumores.	Pág. 202

Índice de Anexos

Anexo 1.	Análise descritiva dos resultados das captações *in vitro* de ^{18}F-FDG.
Anexo 2.	Análise descritiva dos resultados relativos à expressão de transportadores de glicose, quantificados por citometria de fluxo (resultados apresentados em intensidade média de fluorescência).
Anexo 3.	Análise descritiva dos resultados relativos à expressão de receptores hormonais e génicos, quantificados por citometria de fluxo (resultados apresentados em intensidade média de fluorescência).
Anexo 4.	Análise descritiva dos resultados relativos à expressão de KI-67, quantificada por citometria de fluxo (resultados apresentados em intensidade média de fluorescência).
Anexo 5.	Resultados relativos aos relatórios médicos dos estudos PET/CT, biópsias e análise histológica e classificação TNM final para cada doente, efectuados em contexto de avaliação de tumores primitivos ou recidiva local de cancro da mama.
Anexo 6.	Análise descritiva dos resultados relativos à captação de ^{18}F-FDG em tumores primitivos ou recidiva local de cancro da mama, em estudos PET/CT, pré terapêutica sistémica.
Anexo 7.	Análise descritiva dos resultados relativos à captação de ^{18}F-FDG em tumores primitivos ou recidiva local de cancro da mama, incluindo distribuição de $SUV_{máx}$ e $SUV_{médio}$, número de nódulos e quadrantes envolvidos, classificação TNM e grau de diferenciação de Bloom.

Lista de Acrónimos

µA	microampere
$^{18}F^-$	Ião flúor-18
^{18}F-FDG	***F**luodeoxyglucose **F**-18* (fluoro-2-deoxi-glicose, marcada com flúor-18 ou [18]Flúor-fluoro-2-deoxi-glicose)
3-DG	3-**d**esoxi**g**licose
4-DG	4-**d**esoxi**g**licose
a.a.	**a**mino**á**cidos
Acetil-CoA	Acetilcoenzima A
ACR	***A**merican **C**ollege of **R**adiology*
ADH	***A**nti **D**iuretic **H**ormone* (hormona anti-diurética ou vasopressina)
ADP	***A**denosine **Dip**hosphate* (adenosina difosfato)
AKT	genes da família AKT (também conhecidos por proteína quinase B (PKB), são proteínas quinase serina/treonina que desempenham papel importante em múltiplos processos celulares como metabolismo da glicose, proliferação celular, apoptose, transcrição e migração celular)
AMP	***A**denosine **M**ono**p**hosphate* (adenosina monofosfato)
AMPK	***A**denosine **M**ono**p**hosphate-activated **P**rotein **K**inase* (proteína quinase adenosina monofosfato activada)
APOC3	Anticorpo Policlonal anti-poliproteína CIII
ASR	***A**ge **S**tandardized **R**ate* (taxa padronizada por idade)
ATCC	***A**merican **T**ype **C**ulture **C**ollection*
ATP	***A**denosine **Tri**phosphate*
Bad	Proteínas pró-apoptóticas da família dos genes Bcl-2
bcl-2	***B**-**c**ell **l**eukaemia/**l**ymphoma* (símbolo da proteína)
BCL-2	***B**-**C**ell **L**eukaemia/**L**ymphoma* (símbolo do gene)
Bcl-2 e Bcl-xL	Proteínas anti-apoptóticas
BEM	***B**asal **E**agle's **M**edium* (meio basal de *Eagle*)
BMS	***B**ristol **M**yers and **S**quibb*
Bq	***B**ec**q**uerel* (unidade do sistema internacional - uma desintegração por segundo)
BRCA	***B**reast **C**ancer **A**ssociated **G**ene*
BRCA1	***Br**east **Ca**ncer **A**ssociated **G**ene 1* (gene supressor tumoral 1)
BRCA2	***Br**east **Ca**ncer **A**ssociated **G**ene 2* (gene supressor tumoral 2)
CA 15.3	***C**ancer **A**ntigen-Breast* 15.3 (glicoproteína do epitelio mamário utilizada como marcador tumoral do cancro da mama)
C	Citoplasmático
$C_3H_5O_3$	Piruvato

$C_3H_7O_3$	Lactato
$C_6H_{12}O_6$	Glicose
CA-IX	***C**arbonic **A**nydrase-**IX*** (enzima anidrase carbónica IX)
cAMP	**A**denosina 3',5'-**M**onofosfato **c**íclico (ou AMP cíclico)
	Caspase – ***C**ysteine-rich **a**spartate **p**roteases* (enzima protease do aspartato rica em cisteína)
CDI	**C**arcinoma **D**uctal **I**nvasivo
CDIS	**C**arcinoma **D**uctal ***i**n-**s**itu*
CFD	***C**onstant **F**raction **D**iscriminators* (discriminadores de fracção constante)
CHUC	**C**entro **H**ospitalar e **U**niversitário de **C**oimbra
Ci	***Cur**ie*
CIDG	*2-**c**hloro-2-**d**eox**y**-**g**lucose*
CIS	***C**ommonwealth of **I**ndependent **S**tates*
CLIS	**C**arcinoma **L**obular ***i**n **s**itu*
c-MYC	***My**elo**c**ytomatosis Oncogene* (gene regulador que codifica um factor de transcrição. Em várias formas de cancro é identificada uma versão mutada deste gene)
CO_2	Dióxido de carbono
COMT	**C**atecol-**O**-**M**e**t**iltransferase
$COOH^-$	Grupo carboxílico
CPM	**C**ontagens **p**or **M**inuto
CT	***C**omputed **T**omography* (tomografia computorizada)
CXCL12	Ligando 12 do gene de citocina (C-X-C motif)
CXCL14	Ligando 14 do gene de citocina (C-X-C motif)
Da	**Da**lton
DMEM	***D**ulbecco's **M**odified **E**agle's **M**edium*
DMEM LG	***D**ulbecco's **M**odified **E**agle's **M**edium **L**ow **G**lucose*
DMSO	***D**imethyl **S**ulfoxide* (composto organossulfurado $(CH_3)_2SO$ (ácido fraco) usado como extractor em bioquímica e biologia celular)
DNA	***D**eoxyribo**n**ucleic **A**cid* (ácido desoxirribonucleico)
DTCs	*Microscopic **D**isseminated **T**umour **C**ells*
DUR	***D**ose **U**ptake **R**atio* (razão dose captação)
ECM	***E**xtra**c**ellular **M**atrix*
EDTA	***E**thylene**D**iamine **T**etraacetic **A**cid* (ácido etilenodiamino tetra-acético)
EGF	***E**pidermal **G**rowth **F**actor* (factor de crescimento epidérmico)
EGFR	***E**pidermal **G**rowth **F**actor **R**eceptor* (receptor do factor de crescimento epidérmico)
EGP2	***E**pithelial **G**lyco**p**rotein **2*** (glicoproteína epitelial 2)
ELISA	***E**nzyme-**L**inked **I**mmunosorbent **A**ssay* (teste imunoenzimático que permite a detecção de anticorpos específicos)
EMFs	***E**lecto**M**agnetic **F**ields*

EMT	***E**pithelial-**M**esenchymal **T**ransition*
eq.	equação
ER	***E**strogen **R**eceptor* (receptores de estrogénio)
ERK	***E**xtracellular-signal-**R**egulated **K**inase* (enzima quinase regulada por sinal extracelular)
EU-12	Conjunto dos países que faziam parte da União Europeia antes de Janeiro de 1995
EU-15	Conjunto dos países que faziam parte da União Europeia antes de Maio de 2004
F1,6BP	Frutose-1,6-bifosfato
F2,6BP	Frutose-2,6-bifosfato
F6P	Frutose-6-fosfato
FGF	***F**ibroblast **G**rowth **F**actor*
FHIT	***F**ragile **Hi**stidine **T**riad* (gene que codifica a proteína tríade frágil da histidina, também conhecida como Bis(5'-adenosil)-trifosfatase)
FITC	***F**luoro**i**so**t**hio**c**yanate*
FOV	***F**ield **o**f **V**iew* (campo de visão)
FSC	***F**orward **S**catter* (dispersão de luz de baixo ângulo)
FSH	***F**ollicle-**S**timulating **H**ormone* (hormona folículo-estimulante)
FUR	***F**ractional **U**ptake **R**ate* (taxa de captação fraccional)
G0	***G**ap **0** Phase* (fase 0 do ciclo celular)
G1	***G**ap **1** Phase* (fase 1 do ciclo celular)
G2	***G**ap **2** Phase* (fase 2 do ciclo celular)
G2M	Fase de transição entre as fases G2 e M do ciclo celular
GenBank	Banco de dados de sequências de nucleótidos
GLUT	***G**lucose **T**ranspor**t**er Protein* (proteína transportadora de glicose)
GLUT-1	Isoforma 1 das proteínas transportadoras de glicose
GLUT-10	Isoforma 10 das proteínas transportadoras de glicose
GLUT-11	Isoforma 11 das proteínas transportadoras de glicose
GLUT-12	Isoforma 12 das proteínas transportadoras de glicose
GLUT-2	Isoforma 2 das proteínas transportadoras de glicose
GLUT-3	Isoforma 3 das proteínas transportadoras de glicose
GLUT-4	Isoforma 4 das proteínas transportadoras de glicose
GLUT-5	Isoforma 5 das proteínas transportadoras de glicose
GLUT-6	Isoforma 6 das proteínas transportadoras de glicose
GLUT-7	Isoforma 7 das proteínas transportadoras de glicose
GLUT-8	Isoforma 8 das proteínas transportadoras de glicose
GLUT-9	Isoforma 9 das proteínas transportadoras de glicose
GMTV	***G**lucose **M**etabolic **T**umor **V**olume* (volume tumoral com metabolismo de glicose)
Gp-P	**G**lico**p**roteína – **P**
H^+	**H**idrogénio (ião)

H218O	Água
H_2O	Água
HCC1806	***H**uman **C**arcinoma **C**ells* 1806 (linha celular de células humanas de carcinoma da mama, 1806)
HCC1954	***H**uman **C**arcinoma **C**ells* 1954 (linha celular de células humanas de carcinoma da mama, 1954)
HCℓ	Cloreto de hidrogénio
HCO_3^-	Bicarbonato (ião)
HER2	***H**uman **E**pidermal Growth Factor **R**eceptor **2*** (gene)
her2	***h**uman **e**pidermal growth factor **r**eceptor 2* (proteína do receptor do factor de crescimento epidermal humano 2, ou proteínac-erbB-2)
HFF-1	***H**uman **F**oreskin **F**ibroblast* 1 (linha celular de fibroblastos humanos de origem no prepúcio)
HG	***H**igh **G**lucose*
HIF	***H**ypoxia-**I**nducible **F**actor* (factor de crescimento de indução de hipóxia)
Hk	**h**exo**k**inase (hexoquinase)
HLA	***H**uman **L**eucocyte **A**ntigen* (antigénio de leucócitos humanos)
HMIT	***H**$^+$ coupled **M**yo-**I**nositol **T**ransporter* (transportador de glicose da família dos GLUTs)
HPLC	***H**igh **P**erformance **L**iquid **C**hromatography* (cromatografia líquida de alta eficiência)
HRE	***H**ormone **R**esponsive **E**lements* (elementos sensíveis a hormonas)
HSP	***H**eat **S**hock **P**roteins* (proteínas de choque térmico)
I.V.	**I**nfra**v**ermelho
IARC	***I**nternational **A**gency for **R**esearch on **C**ancer* (Agência Internacional de Investigação do Cancro)
IGF	***I**nsulin-like **G**rowth **F**actor* (factor de crescimento tipo insulina)
IgG	**I**muno**g**lobulina **G**
IHC	***I**mmuno**h**isto**c**hemical* (imunohistoquímico)
IMC	**Í**ndice de **M**assa **C**orporal
kDa	**k**ilo-**D**alton (unidade de massa atómica não do sistema internacional mas reconhecida pelo mesmo sistema. Um Dalton é aproximadamente igual à massa de um protão ou de um neutrão)
K_{eq}	**C**onstante de **e**quilíbrio **q**uímico de uma reacção química reversível
keV	**k**ilo**e**lectrão **V**olt (1 keV= $1.60217646 \times 10^{-16}$ joules)
kg	Quilograma (unidade de massa do SI)
KI-67	Anticorpo monoclonal KI-67
KI-67	Proteína (antigene) codificada pelo gene MKI67 e identificada pelo anticorpo monoclonal KI-67

K_m	Constante de dissociação do complexo enzima-substrato
LAL	***L**imulus **A**mebocyte **L**ysate* (lisado de amebócitos limulus)
LDH-A	**L**actato-**D**esidrogenase **A**
LET	***L**inear **E**nergy **T**ransfer* (factor de medida de energia linear transferida)
LG	***L**ow **G**lucose*
LKB	***L**iver **K**inase* (quinase do fígado)
LKB1	***L**iver **K**inase **B1*** (quinase do fígado B1, é uma proteína supressora tumoral, também conhecida por *Serine/threonine kinase* 11 (STK11) ou *renal carcinoma antigen* NY-REN-19 que no ser humano é codificada pelo gene STK11)
LOR	***L**ine **o**f **R**esponse* (linha de resposta)
M	**M**embranar
M	***M**itosis Phase* (fase da mitose no ciclo celular)
M	**M**olar
M2-PK	Isoforma dimérica **M2** da **P**iruvato **Q**uinase
MBq	***M**ega**B**erec**q**uel* (unidade derivada do Becquerel, unidade do S.I. da radioactividade. 1MBq = 10^6 Bq)
MCF-7	***M**ichigan **C**ancer **F**oundation* – **7** (linha celular de adenocarcinoma da mama humano dependente de estrogénio, isolada naquela instituição em 1970. A designação desta linha celular constitui uma referência ao instituto em Detroit onde foi estabelecida por *Herbert Soule* e companheiros de trabalho)
mCi	***m**illi**C**uri**e*** (unidade de radioactividade não SI; 1mCi = 37MBq)
MEM	***M**inimum **E**ssencial **M**edium* (meio mínimo essencial)
MeV	**M**ega **e**lectrão-**V**olt
MHz	**m**ega**h**ert**z**
MIB1	***E3 ubiquitin-protein ligase*** (é uma enzima codificada pelo gene MIB1 e envolvida na regulação da apoptose)
MIF	**M**ediana da **I**ntensidade de **F**luorescência
min.	minutos
MKI67	Gene responsável pela codificação da proteína KI-67
mM	**m**ili**m**olar
MN	**M**edicina **N**uclear
MRI	***M**agnetic **R**essonance **I**maging* (Ressonância Magnética)
mRNA	***m**essenger **R**ibo**n**ucleic **A**cid* (RNA mensageiro)
MTGA	***M**ultiple-**T**ime **G**raphical **A**nalysis* (análise gráfica multi-temporal)
mTOR	***m**ammalian **T**arget **O**f **R**apamycin* ou ***m**echanistic **T**arget **O**f **R**apamycin* (é uma proteína quinase serina/treonina que regula o crescimento, proliferação, motilidade e sobrevivência celulares, síntese proteica e transcrição e, nos humanos, é codificada pelo gene FRAP1)
Na^+	catião de sódio

NAD	***N**icotinamide **A**denine **D**inucleotide* (coenzima nicotinamida adenina nucleotídeo, difosfopiridina nucleotídeo ou ainda dinucleótido de nicotinamida-adenina)
NAD^+	Estado oxidado da nicotinamida adenina dinucleótido
NADH	Estado reduzido da nicotinamida adenina dinucleótido
NADPH	*N**icotinamide **A**denine **D**inucleotide **P**hosphate-**O**xidase* (complexo enzimático ligado à membrana plasmática)
NaOH	Fórmula molecular do hidróxido de sódio
NCBI	***N**ational **C**enter for **B**iotechnology **I**nformation* (Centro Nacional para Informação em Biotecnologia)
NH_2^-	Grupo amina
ns	**n**ano-**s**egundos
NSABP	***N**ational **S**urgical **A**djuvant **B**reast and **B**owel **P**roject*
O_2	**O**xigénio
OXPHOS	***O**xidative **P**hosphorylation* (fosforilação oxidativa)
P53	**P**roteína 53
PBS	***P**hosphate **B**uffered **S**aline* (solução tampão de fosfato salino)
pCO2	**p**ressão **p**arcial de dióxido de carbono
PDGF	***P**latelet-**D**erived **G**rowth **F**actor* (factor de crescimento derivado de plaquetas)
PDH	***P**yruvate **D**ehydrogenase* (Piruvato Desidrogenase)
PDK	***P**yruvate **D**ehydrogenase **K**inase* (Piruvato Desidrogenase Quinase)
PE	***P**hyco**e**rythrin* (ficoeritrina)
PET	***P**ositron **E**mission **T**omography* (Tomografia por Emissão de Positrões)
PET/CT	Tecnologia híbrida que envolve um sistema PET e um sistema CT incorporados num único tomógrafo
PFK-1	6-fosfofruto-1-quinase
P_i	Radical fosfato inorgânico
PI3K	***P**hospho**i**nositide-**3**-**k**inase* (fosfatidilinositol-3-quinase)
PKB	***P**rotein **K**inase **B*** (proteína quinase B)
pO2	**p**ressão **p**arcial de **o**xigénio
ppb	**p**artes **p**or **b**ilião
ppm	**p**artes **p**or **m**ilhão
PR	***P**rogesterone **R**eceptor* (receptores de progesterona)
pRB	**p**roteína associada ao **R**etino**b**lastoma
PVC	***P**oly**v**inyl **c**hloride* (policloreto de vinil)
QMA	***Q**uaternary ammonium anion exchange*
QR	**Q**uociente de **R**eacção química
QT	**Q**uimio**t**erapia
RAS	***Ra**t **S**arcoma* (família de genes que codificam as proteínas ras)

ras	Super família de proteínas responsáveis pela transdução de sinal celular. O termo *rat sarcoma* do qual é abreviatura a designação Ras, reflecte a forma como foram descobertos os primeiros membros desta família)
RB	Gene **R**etino**b**lastoma
Rf	***R**epartion **F**actor* (factor de repartição)
RNA	***R**ibo**n**ucleic **A**cid* (ácido ribonucleico)
ROI	***R**egion **o**f **I**nterest* (região de interesse)
ROS	***R**eactive **O**xygen **S**pecies* (espécies reactivas derivadas do oxigénio)
rpm	**r**otações **p**or **m**inuto
RPMI LG	***R**oswell **P**ark **M**emorial **I**nstitute **L**ow **G**lucose*
RPMI-1640	***R**oswell **P**ark **M**emorial **I**nstitute*
S	***S**ynthesis Phase* (fase de síntese do ciclo celular)
SBF	**S**oro **B**ovino **F**etal
SBR	***S**carff-**B**loom-**R**ichardson* (sistema de classificação tumoral de *Bloom*)
SCO2	***C**ytochrome **O**xidase deficient homolog 2 (yeast)* (citocromo c oxidase deficiente no homólogo 2 (levedura))
Sep-Pak®	*Accell Plus QMA Sep-Pak®*
SGLT	***S**odium-dependent **gl**ucose co-**t**ransporters* (família de co-transportadores de glicose dependentes de sódio)
SI	**S**istema **I**nternacional
SKY	Cariótipo espectral
SLC2A	Símbolo do gene das proteínas transportadoras de membrana
SN2	Substituição Nucleofílica 2
SO_3^{2-}	Ião sulfito
SPECT	***S**ingle **P**hoton **E**mission **C**omputerized **T**omography* (tomografia por emissão de fotões simples)
SPF	***S**-**P**hase **F**raction* (fracção de fase-S)
SPSS	***S**tatistical **P**ackage for **S**ocial **S**ciences*
SRC	Gene responsável pela codificação da proteína src (pronunciado sarc como abreviatura de sarcoma)
src	Proteína do oncogene tirosina quinase (enzima que codifica a tirosina quinase e que nos humanos é codificada pelo gene SRC)
SSC	***S**ide **S**catter* (dispersão lateral de luz)
STR	***S**hort **T**andem **R**epeat* (sequências curtas repetidas em tandem)
SUV	***S**tandardized **U**ptake **V**alue* (valor estandardizado de captação de ^{18}F-FDG calculado nas imagens PET)
SUV_{max}	Valor **máx**imo de ***S**tandardized **U**ptake **V**alue*
SUV_{med}	Valor **méd**io de ***S**tandardized **U**ptake **V**alue*
SUV_{peak}	Valor **máx**imo de ***S**tandardized **U**ptake **V**alue* de uma área seleccionada

TBA	***T**etra**b**utyl**a**mmonium* (tetrabutilamónio)
TCA	***T**ri**c**arboxylic **A**cid Cycle* (ciclo do ácido tricarboxílico ou ciclo de Krebs)
TGF-α	***T**ransforming **G**rowth **F**actor – alpha* (factor de crescimento para transformação - alfa)
TGF-β	***T**ransforming **G**rowth **F**actor – beta* (factor de crescimento para transformação - beta)
TIGAR	***T**P53-**I**nduced **G**lycolysis and **A**poptosis **R**egulator* (gene regulador de glicólise e apoptose, induzido pela P53)
Tis	**T**umor ***i**n-**s**itu*
TLC	***T**hin **L**ayer **C**hromatography* (cromatografia de camada fina)
TM	***T**rans**m**embrane Domain* (domínios transmembranares)
TNBC	***T**riple **N**egative **B**reast **C**ancer* (tumores mamários ditos triplos negativos)
TNF	***T**umor **N**ecrosis **F**actor* (factor de necrose tumoral)
TNF α	***T**umor **N**ecrosis **F**actor α* (factor alfa de necrose tumoral)
TNM	***T**umor* (**T**), *Lymph **N**ode* (**N**), ***M**etastasis* (**M**) (sistema de classificação tumoral de acordo com o estado do tumor, dos gânglios linfáticos e metastização à distância)
TOF	***T**ime **o**f **F**light* (tempo de voo)
TP53	Gene supressor tumoral 53 (ou P53)
TSP-1	**T**rombo**sp**ondina-1
UDLT	**U**nidades **D**ucto-**L**obulares **T**erminais
UICC	**U**nião **I**nternacional **C**ontra o **C**ancro
VEGF	***V**ascular **E**ndothelial **G**rowth **F**actor* (factor de crescimento vascular endotelial)
WHO	***W**orld **H**ealth **O**rganization* (Organização Mundial de Saúde – OMS)

1. Introdução

O cancro da mama constitui a forma de cancro mais comum entre mulheres, com uma prevalência crescente, sendo susceptível de tratamento quando o diagnóstico é precoce e a terapêutica optimizada. Neste contexto, estudos de investigação capazes de determinar factores influentes na captação de ^{18}F-FDG (fluoro-2-deoxi-glicose, marcada com flúor-18 ou [18]Flúor-fluoro-2-deoxi-glicose ou, do inglês, *Fluodeoxyglucose F-18*) em lesões de cancro da mama, acarretam valor potencial na definição do papel desta técnica no processo de estadiamento inicial, tratamento e seguimento de doentes com este tipo de patologia, ou mesmo na implementação de novas abordagens terapêuticas.[1,2]

A tomografia por emissão de positrões (do inglês, *Positron Emission Tomography*, PET) com recurso ao análogo radiomarcado da glicose fluoro-2-deoxi-glicose marcada com flúor-18 (^{18}F-FDG) constitui uma modalidade diagnóstica não invasiva que permite quantificar a actividade metabólica celular, através do cálculo da captação de ^{18}F-FDG, com recurso a uma ferramenta de cálculo conhecida por *standardized uptake value* (SUV), possibilitando, dessa forma, a detecção de processos de glicólise em células cancerígenas e apresentando, consequentemente, elevado valor no diagnóstico, estadiamento, detecção de recorrência e avaliação de resposta à terapêutica em inúmeras patologias malignas. No cancro da mama, a PET apresenta considerável variabilidade na captação de ^{18}F-FDG, o que se traduz em distintos valores de sensibilidade e especificidade da técnica que, por sua vez, põem em causa a sua utilidade diagnóstica.[1]

As lesões induzidas por cancro da mama são facilmente associadas a valores de SUV caracteristicamente inferiores aos encontrados noutras patologias tumorais.[1,3,4] Como tal e considerando que no cancro da mama, como noutras patologias tumorais, a captação de ^{18}F-FDG indica, geralmente, o grau de metabolismo do tumor podendo dar indicações acerca do comportamento e prognóstico da doença, as características tumorais capazes de explicar as propriedades biológicas subjacentes ao metabolismo da glicose e, por sua vez, à acumulação de ^{18}F-FDG, levantam natural curiosidade e sugerem subsequente investigação. Vários estudos têm vindo a procurar estudar a correlação da captação de ^{18}F-FDG com uma variedade de biomarcadores moleculares e prognósticos, capazes de predizer a resposta à terapêutica. No entanto, são escassos os dados que estabelecem relação entre essa mesma capacidade de captação e os perfis das lesões malignas de cancro da mama, relativamente à expressão de receptores hormonais (de estrogénio (ER) e progesterona (PR)) ou à expressão génica (receptor HER2 ou neu, do inglês *human epidermal growth factor receptor*-2).

Sendo considerados importantes biomarcadores no cancro da mama, os perfis de

expressão de ER, PR e HER2 fornecem informação prognóstica importante, para além de, de certa forma, preverem a resposta à terapêutica. A quantificação dos receptores hormonais ER e PR, é essencial na implementação de terapêutica hormonal adequada. Já o receptor HER2 foi recentemente introduzido como marcador preditivo de prognóstico da doença. A determinação deste receptor é particularmente útil na selecção de doentes com cancro da mama em estádio avançado, para tratamento por imunoterapia com anticorpos monoclonais de que é exemplo o trastuzumab.

O ^{18}F-FDG entra nas células através dos mesmos mecanismos membranares de transporte da glicose, ou seja, por proteínas transportadoras de glicose (GLUT). Após transposição da membrana celular, ambos (glicose e ^{18}F-FDG) são fosforiladas pela hexoquinase (hk). Contudo, ao contrário da glicose-6-fosfato, o ^{18}F-FDG-6-fosfato não é um substrato da isomerase glicose-6-fosfatase e, como tal, não sofre metabolização subsequente. Deste modo, o ^{18}F-FDG-6-fosfato produzido no interior das células tumorais permanece retido no interior da célula.[1,5,6] Foram já reconhecidos 3 mecanismos responsáveis pela utilização aumentada de glicose por células tumorais: sobrexpressão de GLUT, sobretudo das isoformas GLUT-1 e GLUT-3; actividade aumentada da hexoquinase e níveis reduzidos de glicose-6-fosfatase. Contudo, tumores com elevada acção de glicose-6-fosfatase podem apresentar uma captação inferior de ^{18}F-FDG.[3,6]

Neste contexto, o presente trabalho tem como objectivo primordial estabelecer factores biológicos associados aos diversos subtipos de cancro da mama que apresentem impacto na captação e metabolismo da glicose, utilizando para o efeito, um análogo radioactivo da glicose, a ^{18}F-FDG. A vertente *in vitro* deste trabalho foi desenvolvida na sua totalidade no Instituto de Biofísica e Biomatemática da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. A vertente *in vivo* foi desenvolvida no serviço de Medicina Nuclear do Centro Hospitalar Universitário de Coimbra, sendo que todas as imagens analizadas para efeitos deste estudo pertencem à base de dados dos estudos PET/CT deste serviço. Parte da totalidade do produto utilizado para realização dos estudos *in vitro* foi fornecida pelo serviço de Medicina Nuclear dos Hospitais da Universidade de Coimbra.

De modo a efectuar um enquadramento bibliográfico do presente trabalho é feita uma revisão da bibliografia nos capítulos 2, 3 e 4. O capítulo 2 introduz conceitos relacionados com alterações fundamentais que ocorrem ao nível celular na doença oncológica em geral, sendo, também, estabelecidos alguns factos estatísticos associados à prevalência e mortalidade desta forma de doença. No capítulo 3, mais direccionado especificamente para o cancro da mama, são apresentados dados epidemiológicos nacionais e internacionais da doença, brevemente descritas anatomia e fisiologia normais da mama e enunciados factores de risco que caracterizam o cancro da mama. São, ainda, analisadas as classificações histológica e molecular do cancro da mama e descritos factores prognósticos e predictivos da patologia maligna mamária, bem como os

sistemas utilizados de estadiamento tumoral, incluindo meios complementares utilizados para o efeito e potenciais abordagens terapêuticas. No capítulo 4 são descritos os mecanismos celulares de captação e metabolismo da glicose e da ^{18}F-FDG, com particular atenção dada às componentes proteica e enzimática, intervenientes no metabolismo glicolítico. No capítulo 5 são descritos os objectivos gerais e específicos do trabalho efectuado e o capítulo 6 inclui a descrição dos materiais, métodos e técnicas utilizados na elaboração prática do presente trabalho. Nos capítulos 7 e 8 são, respectivamente, apresentados os resultados obtidos e a discussão dos mesmos, bem como dos métodos utilizados. Finalmente, no capítulo 9, são realçadas as conclusões mais relevantes retiradas a partir da discussão efectuada.

2. Caracterização da Doença Oncológica

A patologia oncológica é, em Portugal como internacionalmente (mesmo nos países em desenvolvimento), uma importante causa de morbilidade e mortalidade. De acordo com a Agência Internacional de Investigação do Cancro (IARC ou, do inglês, *International Agency for Research on Cancer*), extensão da Organização Mundial de Saúde (WHO ou do inglês *World Health Organization*), que emite periodicamente, relatórios internacionais de taxas de incidência e mortalidade (GLOBOCAN) desta patologia, registaram-se em 2012 cerca de 14,1 milhões de novos casos de cancro no mundo e 8,2 milhões de mortes resultantes da doença. De acordo com a figura 1, os cancros da mama, próstata e pulmão são os mais comummente diagnosticados entre indivíduos de ambos os sexos. No entanto, as causas mais comuns de morte por cancro são, por ordem decrescente, os cancros do pulmão, mama e fígado. Segundo as estimativas do IARC, até 2030 deverão registar-se cerca de 21,4 milhões de novos casos de cancro por ano e registar-se-ão 13,2 milhões de mortes. Relativamente à incidência e à mortalidade o número de casos deverá, portanto, duplicar. [2,7]

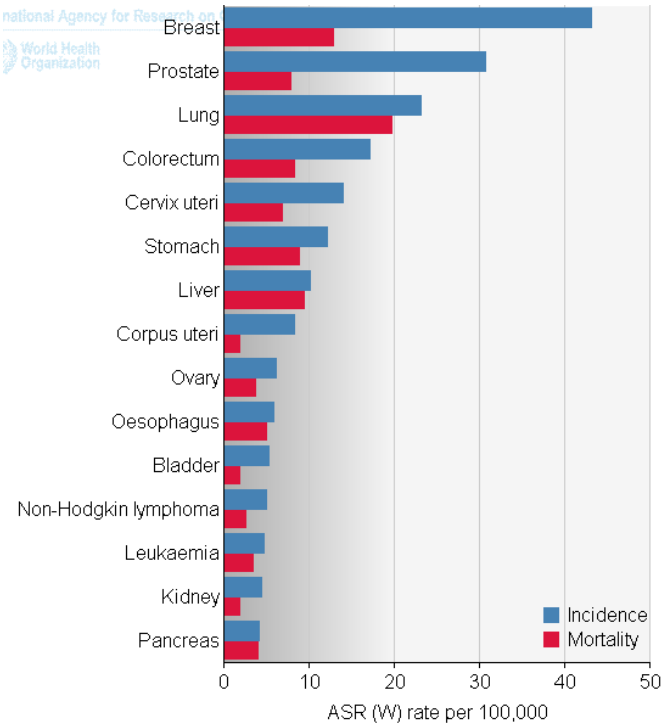


Figura 1. Distribuição das taxas estimadas (padronizadas por idade) de incidência e mortalidade, por tipo de cancro, para ambos os sexos, em 2012, em todo o mundo/100,000.[2]

Tal como em outros países desenvolvidos, também em Portugal a doença oncológica representa a segunda causa de morte (22,2% do total de óbitos), a seguir às doenças do aparelho circulatório (32,2%). No entanto, para a população entre os 45 e os 74 anos, a mortalidade por cancro passa para a primeira posição, com mais de 30% dos óbitos registados nesse grupo etário.[8] Mundialmente, a razão das taxas de incidência ASR (do inglês *Age Standardized Rate*) de patologia oncológica, padronizadas por idade, entre regiões desenvolvidas ou em desenvolvimento, é de 1,8 no caso do sexo masculino e 1,6 para o sexo feminino, enquanto as mesmas taxas relativas à mortalidade são bastante inferiores, 1,2 para os homens e perto de 1,0 para as mulheres, de acordo com a figura 2. Esta realidade poderá dever-se ao facto de, nos países desenvolvidos, um conjunto de cancros estar associado a uma taxa de sobrevivência razoavelmente elevada (cancros da próstata, mama e colo-rectal), enquanto em regiões menos desenvolvidas, serem mais comuns formas de cancro com pior prognóstico (cancro do fígado, estômago e esófago).[7]

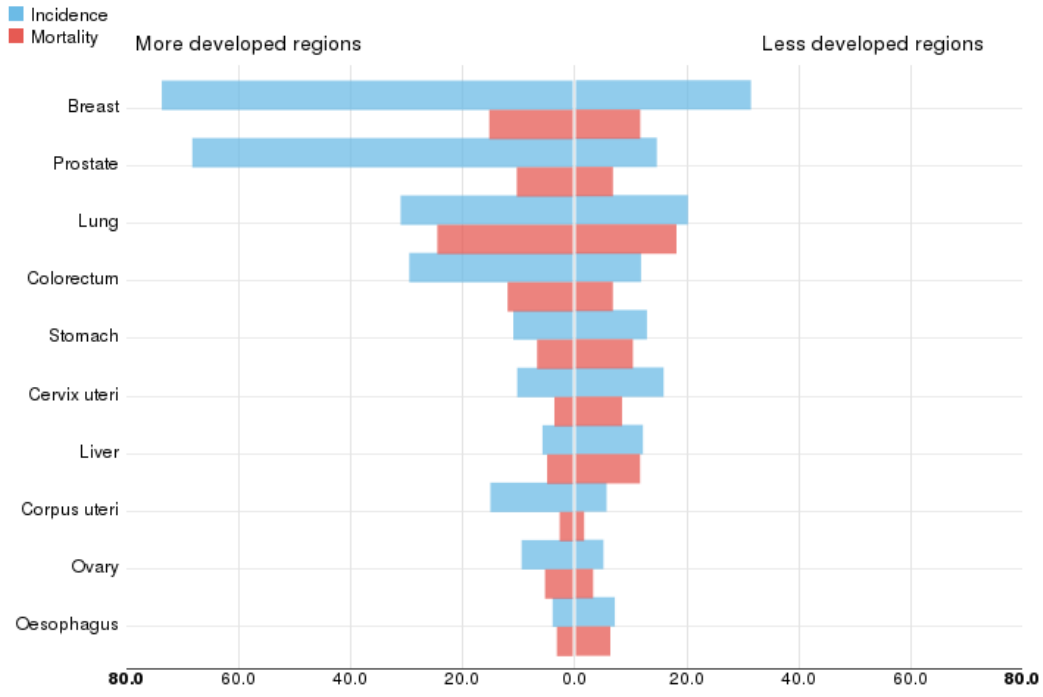


Figura 2. Distribuição das taxas padronizadas de incidência e mortalidade, por tipo de cancro (10 tipos mais comuns de cancro) em 2012. Comparação entre regiões desenvolvidas e subdesenvolvidas de todo o mundo.[7]

Em Portugal, a incidência de novos casos de tumores malignos, tem vindo a aumentar regularmente. Entre 2009 e 2010 verificou-se um aumento de 4% dos casos registados em Portugal.[9] De acordo com a figura 3, para os cancros do cólon e recto (14,5%), próstata (13,5%), mama (12,4%), pulmão (8,5%) e estômago (6,1%) que, em conjunto, representaram 55% do total de novos casos registados nesse ano.[2]

São muitas e variadas as potenciais causas de cancro conhecidas, entre elas a predisposição genética, influências ambientais, agentes infecciosos e o próprio envelhecimento.[10] A patologia cancerígena caracteriza-se por alterações dinâmicas no genoma. Várias evidências indicam que a carcinogénese na espécie humana é um processo que compreende múltiplas alterações genéticas, que levam a uma progressiva transformação de células humanas normais em células malignas. Estudos morfológicos de diferentes pontos de determinados órgãos, mostram lesões que parecem representar etapas intermédias deste processo, em que as células evoluem da normalidade, através de uma série de estádios pré-malignos, para cancros invasivos.[11] O estudo de patologia cancerígena no ser humano e de modelos animais leva a crer que o processo tumoral ocorre de uma forma semelhante ao mecanismo de evolução descrito por *Darwin*, em que uma sucessão de alterações genéticas, cada uma conferindo um ou outro tipo de vantagem de crescimento, conduz a uma progressiva conversão de células normais em células neoplásicas.[11,12]

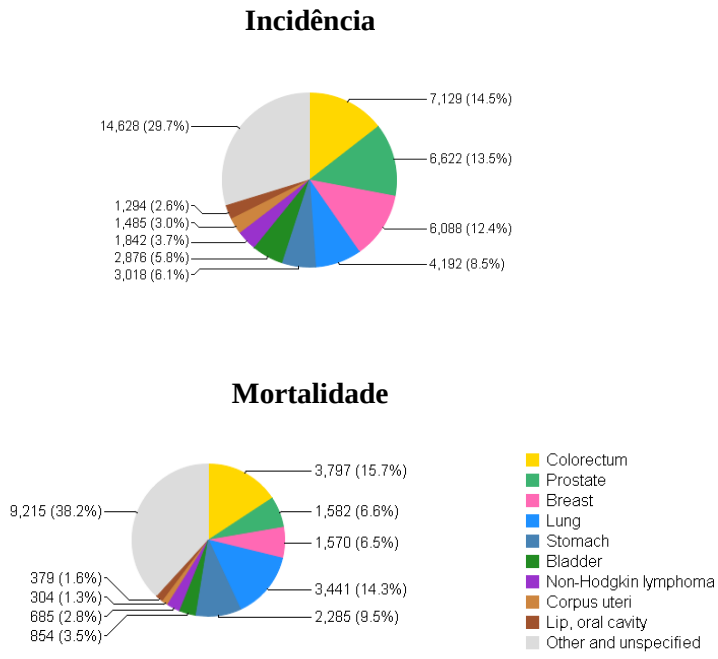


Figura 3. Distribuição das taxas estimadas (padronizadas por idade) de incidência e mortalidade, por tipo de cancro, em 2012, em Portugal/100,000.[2,13]

Apesar da enorme variedade de alterações cancerígenas conhecidas, é geralmente aceite que essa multiplicidade constitui a manifestação de oito alterações essenciais na fisiologia celular e de dois factores facilitadores (inflamação e instabilidade genómica), comuns a todos os tipos de cancro, de acordo com a figura 4.[14,15]

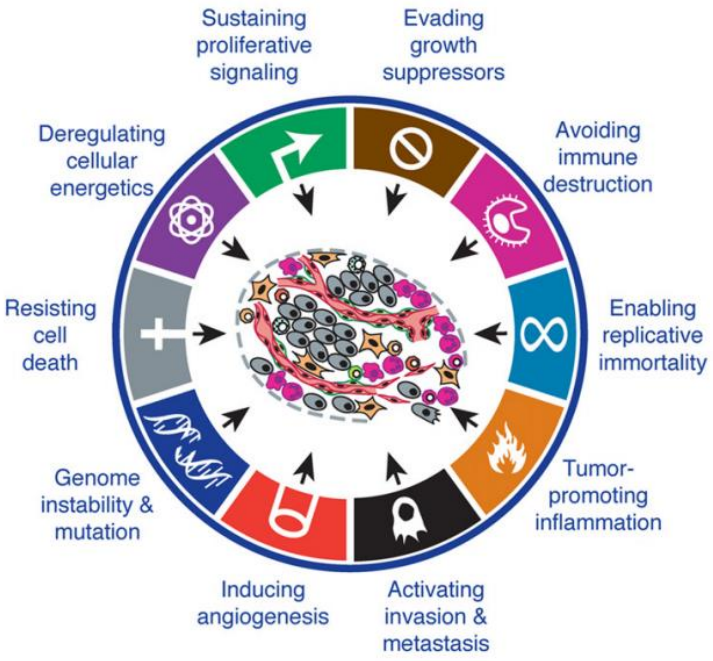


Figura 4. Alterações fundamentais características da doença oncológica e factores facilitadores.[15]

A auto-suficiência de sinais de crescimento é uma das características que fazem do cancro uma doença altamente invasiva. Nenhuma célula normal possui a capacidade de proliferar na ausência de sinais estimuladores de crescimento. As células neoplásicas tornam-se independentes desta estimulação exógena de crescimento, produzindo muitos dos seus factores de crescimento ou sobre-expressando os receptores destas moléculas, o que se traduz na capacidade de proliferar indefinidamente de forma sustentada.[15,16] As células cancerígenas podem adquirir capacidade de sustentação na emissão de factores de crescimento de várias formas: produção de ligandos de factores de crescimento aos quais podem responder através da expressão dos receptores análogos, o que resulta numa estimulação da proliferação autócrina ou, por outro lado, enviando sinais para estimular as células normais localizadas no estroma de suporte ao tumor, que respondem, por sua vez, fornecendo às células tumorais vários factores de crescimento. A sinalização de receptores

pode, também, ser desregulada pela elevação dos níveis de proteínas receptoras presentes na superfície membranar das células tumorais, o que resulta numa resposta aumentada dessas células a quantidades de ligando que, de outra forma, seriam limitativas. O mesmo resultado pode derivar de alterações estruturais nas moléculas receptoras que facilitam o despoletar independente de ligando. A auto-suficiência de factores de crescimento pode, também, derivar da activação de componentes constituintes das vias de sinalização, obviando a necessidade de estimular essas mesmas vias através da activação de receptores mediados por ligandos.[15] A produção de PDGF (factor de crescimento derivado de plaquetas ou, do inglês, *Platelet-Derived Growth Factor*), de TGF-β (do inglês, *Transforming Growth Factor beta*, ou factor de crescimento para transformação beta) por glioblastomas e sarcomas e a sobre-regulação do EGFR (do inglês, *Epidermal Growth Factor Receptor*) nos cancros do estômago, do sistema nervoso central e da mama, são exemplos de mecanismos através dos quais as células neoplásicas se tornam auto-suficientes em relação aos sinais exógenos de crescimento.[15–21]

Outra das alterações características do cancro é a insensibilidade a sinais inibidores de crescimento que, num tecido normal, actuam de forma a manter a quiescência celular e a homeostasia tecidular de múltiplos sinais anti-proliferativos. De forma a sobreviver e a proliferar, as células neoplásicas têm que evadir-se a estes sinais anti-proliferativos, muitos dos quais dependem da acção de genes supressores tumorais. Os dois supressores tumorais prototípicos codificam as proteínas RB (proteína associada ao retinoblastoma) e TP53 (gene supressor tumoral 53, ou P53), que operam como pontos centrais de circuitos complementares essenciais da regulação celular, que comandam a proliferação celular ou, de outra forma, activam programas de senescência ou apoptose. A proteína RB integra sinais de diversas fontes intra ou extra-celulares e, em resposta, decide se uma célula deve prosseguir com o seu ciclo de crescimento e divisão.[22–24] Esta via metabólica bloqueia a proliferação celular através do sequestro e alteração da função de factores de transcrição, que controlam a expressão de um conjunto de genes envolvidos na progressão celular da fase G1 para a fase S e a sua ruptura está associada à proliferação celular insensível a factores inibidores de crescimento que geralmente actuam ao longo desta via.[15,16] Enquanto a RB transduz sinais inibidores do crescimento que são originados no exterior da célula, a TP53 recebe sinais de sensores de tensão e anomalias que funcionam ao nível dos sistemas operativos intra-celulares, ou seja, se o grau de dano no genoma for excessivo, ou se os níveis de grupos nucleotídicos, de sinais promotores de crescimento, de glicose ou oxigenação forem sub-óptimos, a TP53 pode suspender a progressão do ciclo celular até que essas condições sejam normalizadas. Caso ocorram sinais de alarme indicativos de dano irreparável ou insustentável desses sistemas, a TP53 pode desencadear a apoptose.[15]

A evasão à apoptose (morte celular programada) serve como barreira natural ao desenvolvimento do cancro. O seu desencadeamento surge em resposta a várias tensões fisiológicas experienciadas pelas células tumorais no decorrer da carcinogénese ou como

resultado de terapêutica oncológica. Este processo culmina, invariavelmente, na activação de proteases (caspases 8 e 9), geralmente latentes, que iniciam uma cascata de proteólise, na qual se encontram envolvidas caspases efectoras responsáveis pela fase de execução da apoptose. No decorrer desta etapa, a célula é progressivamente desintegrada e, posteriormente, consumida pelas células vizinhas e por células fagocíticas especializadas. A capacidade de uma população de células neoplásicas se expandir em número não depende só da taxa de proliferação celular mas, também, da taxa de morte celular, sendo notável a forma como a apoptose se encontra reduzida em tumores bem sucedidos no que diz respeito a progressão para estádios de elevada taxa de malignidade ou resistentes a terapêutica.[15,25–27]

Tendo em conta a proliferação tumoral desregulada, o aumento do potencial de replicação constitui outra das características dos tumores malignos. As células dos mamíferos possuem um programa intrínseco que limita o seu potencial replicativo. De modo a completar o processo de progressão tumoral, uma população de células pré-malignas necessita de ultrapassar a barreira da mortalidade e adquirir um potencial replicativo ilimitado, cujo objectivo é gerar tumores macroscópicos.[28] A replicação das células normais é limitada por 2 barreiras distintas: a senescência, a entrada típica e irreversível num estado não proliferativo mas viável, e a crise, que envolve a morte celular. Nas células normais propagadas em cultura, vários ciclos de divisão celular conduzem, em primeiro lugar, a senescência. Nas células que são bem sucedidas no contorno desta barreira, segue-se uma fase de crise, que culmina geralmente na morte da grande maioria das células. Em raras ocasiões, algumas células emergem de uma população em crise e exibem potencial replicativo ilimitado. Esta transição é denominada imortalização.[15,29] Um dos mecanismos que as células neoplásicas têm para adquirir capacidade ilimitada de replicação é evitar o encurtamento dos telómeros após cada ciclo celular.[29,30] Os telómeros, constituídos por múltiplas repetições hexanucleotídicas contíguas, são progressivamente encurtados em células não imortalizadas, acabando, eventualmente, por perder a capacidade de proteger as terminações do DNA (ácido desoxirribonucleico ou, do inglês, *Deoxyribonucleic Acid*) cromossómico de fusões ponta a ponta. Estas fusões geram cromossomas dicênctricos instáveis, cuja resolução resulta numa amálgama cariotípica que põe em causa a viabilidade celular. O comprimento do telómero presente no DNA celular determina quantas gerações sucessivas podem ser passadas dos progenitores antes da ocorrência da totalidade da erosão dos telómeros e, consequente, perda da sua função protectora, despoletando a entrada da célula em crise. A telomerase, polimerase especializada que adiciona repetições de hexanucleotídeos aos locais terminais do DNA telomérico, encontra-se praticamente ausente em células não imortalizadas mas está expressa em níveis funcionais significativos na vasta maioria (~90%) de células imortalizadas espontaneamente, inclusivamente em células humanas cancerígenas.[15,30–32]

Para além das alterações ao nível da proliferação, também a formação de novos vasos, garante da sustentação da angiogénese, constitui uma das principais características dos tumores.

O oxigénio e os nutrientes por eles fornecidos são essenciais para a função e sobrevivência celulares, tanto normais como neoplásicas, bem como a capacidade de eliminar desperdícios metabólicos e dióxido de carbono. Durante a embriogénese, o desenvolvimento vascular envolve a formação de novas células endoteliais, a sua agregação em vasos (vasculogénese) e a geração de novos vasos (angiogénese), que são incorporados na rede de vasos previamente existente. Após esta morfogénese, a vasculatura normal torna-se amplamente quiescente. Nos adultos, como parte de processos fisiológicos como a cicatrização de feridas ou do ciclo reprodutivo feminino, a angiogénese é novamente activada, mas apenas de forma transitória. Em contraste, durante a progressão tumoral, a angiogénese encontra-se quase sempre activada e permanece "ligada", provocando a geração contínua de novos vasos numa vasculatura normalmente quiescente, o que permite a sustentação do crescimento e expansão neoplásicos.[33] A neovascularização é um pré-requisito para a rápida expansão clonal, característica da formação de tumores macroscópicos.[33–35] As neoplasias parecem activar a angiogénese pela alteração do equilíbrio entre potenciadores e inibidores da angiogénese.[33,36,37] Alguns destes reguladores angiogénicos são proteínas sinalizadoras que se ligam à superfície celular de receptores estimuladores/inibidores endógenos apresentados pelas células endoteliais vasculares. Os protótipos de indutores e inibidores de angiogénese são o VEGF-A (do inglês, *vascular endothelial growth factor*-A) e o TSP-1 (trombospondina-1), respectivamente.[15] Outro sinal pró-angiogénico é o FGF (do inglês, *fibroblast growth factor*), quando a sua expressão se encontra cronicamente sobre-regulada.[36] A expressão génica de VEGF pode encontrar-se aumentada tanto em situações de hipóxia como por sinalização oncogénica.[38–41] Uma das estratégias para alterar este equilíbrio envolve a alteração da transcrição génica. Os vasos sanguíneos produzidos nos tumores por angiogénese activada cronicamente e por uma mistura desequilibrada de sinais pró-angiogénicos são tipicamente aberrantes: a neovasculatura tumoral é marcada por geração capilar precoce, ramificação excessiva e circinal de vasos, vasos distorcidos e aumentados, fluxo sanguíneo errático, micro-hemorragias, fuga e níveis anormais de proliferação e apoptose.[42,43]

Simultaneamente à formação de novos vasos, surgem na formação tumoral os processos de invasão tecidular e metastização. A capacidade de invadir e metastizar permite às células neoplásicas escaparem ao tumor primário e colonizarem novos locais do organismo, onde, pelo menos inicialmente, os nutrientes e o espaço não são limitados. Estes dois processos estão intimamente interligados e utilizam estratégias operacionais semelhantes, que envolvem alterações na ligação física das células ao seu microambiente e a activação de proteases extracelulares específicas.[44] À medida que os tumores malignos progridem para estádios patológicos mais elevados, o que se reflecte em invasão local ou metastização à distância, as células cancerígenas que lhes estão associadas apresentam alterações na sua forma e na forma de contacto com outras células ou com a matriz extra-celular (ECM, do inglês, *extra-cellular matrix*). Algumas das alterações mais bem caracterizadas envolvem a perda de E-caderina pelas células

cancerígenas, uma molécula de adesão célula-a-célula, ou de integrinas, proteínas que ligam as células a substratos da matriz extracelular.[44–46] Ao promover ligações por adesão às células epiteliais adjacentes, a E-caderina permite a formação de um "lençol" celular epitelial, mantendo a quiescência das células no interior desse lençol. A expressão aumentada de E-caderina funciona como antagonista de invasão e metastização, enquanto a redução da sua expressão potencia esses fenótipos.[15] Para além disso, a expressão génica responsável pela codificação de outras moléculas de adesão célula-a-célula ou célula-a-ECM, encontra-se tipicamente sub-regulada em formas tumorais altamente agressivas. De modo inverso, moléculas de adesão normalmente associadas a migrações celulares que ocorrem em processos de embriogénese ou inflamação, encontram-se geralmente sobre-regulados, como acontece com a N-caderina, normalmente expressa em células mesenquimatosas durante a organogénese e que, em células de tumores invasivos, se encontra sobrexpressa.[46] O processo de invasão e metastização segue uma sequência de passos discretos, a cascata de invasão/metastização. Neste processo ocorre uma sucessão de alterações a nível da organização tecidular, que se inicia com invasão local, seguida de intravasão de células cancerígenas para os vasos sanguíneos e linfáticos, com consequente trânsito de células cancerígenas pelos sistemas linfático e hematogénico, ao que se segue a passagem dessas células do lúmen dos vasos para o parênquima de tecidos distantes (extravasão). Após a fase de extravasão, é desencadeada a formação de pequenos aglomerados de células cancerígenas (micrometástases) e, finalmente, crescimento das lesões micrometastáticas, formando-se agregados macroscópicos, fase designada de colonização.[15] O mecanismo através do qual as células cancerígenas adquirem capacidade de invadir, resistir a apoptose e disseminar é designado por transição epitélio/mesenquimatosa (EMT, do inglês, *epithelial–mesenchymal transition*). Este processo multifacetado pode ser activado de forma transitória ou estável, em diferentes graus, pelas células neoplásicas no decorrer da invasão e metastização.[15,47–51] O programa EMT regula um tipo específico de invasão designado por mesenquimatosa.[52,53] Para além deste, foram ainda identificados dois outros modelos distintos de invasão: invasão colectiva e invasão amebóide. A invasão colectiva envolve o avanço em massa de aglomerados de células cancerígenas para os tecidos adjacentes e que é característico de, por exemplo, carcinomas de células escamosas. No processo de invasão amebóide, as células cancerígenas demonstram, individualmente, uma plasticidade morfológica que lhes permite passar por entre interstícios existentes na matriz extracelular em vez de criarem um caminho para elas mesmas como sucede nos casos de invasão mesenquimatosa e colectiva. Tumores que utilizam mecanismos de invasão colectiva raramente são metastáticos, factor que sugere que faltam a esta forma de invasão, atributos que facilitem a metastização.[54,55]

Novos conceitos envolvidos na patogénese de alguns cancros, se não mesmo de todos, foram recentemente sugeridos. Um deles envolve a capacidade de modificar ou reprogramar o

metabolismo celular, de modo a sustentar a proliferação neoplásica de forma mais efectiva. O segundo permite às células cancerígenas escaparem à destruição imunológica, particularmente por linfócitos T e B, macrófagos e *natural killer cells*. Na figura 5 encontram-se esquematizados os *Hallmarks of Cancer* e, adicionalmente, duas alterações das neoplasias que facilitam a aquisição tanto das características nucleares como das emergentes: a instabilidade genómica e a capacidade de mutação (que dotam as células cancerígenas de alterações que visam a progressão tumoral) e a inflamação provocada por células de defesa inatas, desenhadas para combater infecções e cicatrizar ferimentos. Esta capacidade de induzir inflamação pode, alternativamente, resultar no suporte inadvertido de múltiplas capacidades típicas da patologia cancerígena, que manifesta a capacidade de resposta inflamatória induzidas pelo cancro.[15]

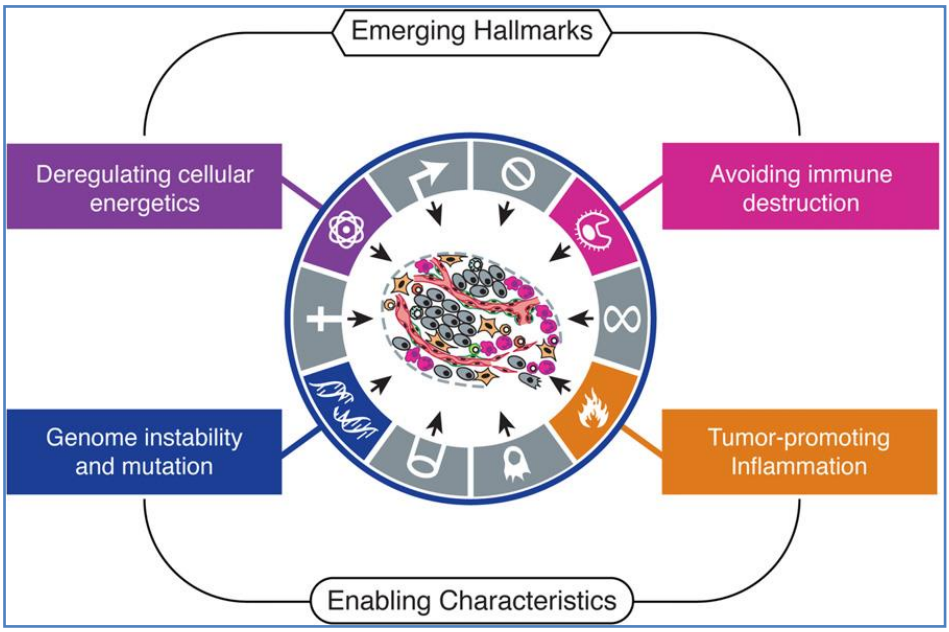


Figura 5. Características emergentes da doença oncológica ("*Hallmarks of Cancer*"), especificidades possibilitadoras necessárias ao crescimento tumoral. Nenhuma destas capacidades se encontra ainda completamente validada nem generalizada, pelo que são designadas por "Conceitos Emergentes".[15]

A reprogramação do metabolismo energético constitui uma característica emergente do cancro. A proliferação crónica e descontrolada, característica das doenças neoplásicas, envolve não apenas uma desregulação do controlo da proliferação celular mas, também, o ajustamento do metabolismo celular de modo a estimular o crescimento e divisão celulares. Em condições aeróbias, as células normais processam a glicose primeiro a piruvato, via glicólise no citosol e, depois, a dióxido de carbono na mitocôndria. Em condições anaeróbias, a glicólise é favorecida

e a relativamente pouca quantidade de piruvato é enviada para a mitocôndria (consumidora de oxigénio). *Otto Warburg* observou uma característica anómala do metabolismo energético das células neoplásicas: mesmo na presença de oxigénio, as células cancerígenas são capazes de reprogramar o seu metabolismo glicolítico e, consequentemente, a sua produção energética, limitando-o à glicólise, o que conduz a um processo designado por "glicólise aeróbia".[56–58] Esta reprogramação do metabolismo energético é, aparentemente, contra-intuitiva, na medida em que as células cancerígenas necessitam de compensar a eficiência de produção de ATP (do inglês, *Adenosine Triphosphate*), que é cerca de 18 vezes inferior à fornecida pela glicólise, relativamente à fosforilação oxidativa mitocondrial. Essa compensação é aparentemente feita pela sobrexpressão de GLUTs (proteína transportadora de glicose ou, do inglês, *Glucose Transporter Protein*), sobretudo GLUT1, aumentando substancialmente o aporte de glicose para o citoplasma.[59–64] De facto, um grande número de patologias malignas revelou aumento da captação de ^{18}F-FDG, um análogo radiomarcado da glicose, relativamente aos tecidos normais, em estudos minimamente invasivos de diagnóstico por imagem: a PET.

O metabolismo glicolítico encontra-se, muitas vezes, associado a oncogenes activos (por exemplo, RAS (do inglês, *Rat Sarcoma* (família de genes que codificam as proteínas ras)), c-MYC (do inglês, *Myelocytomatosis Oncogene*)) e a genes supressores tumorais mutantes (por exemplo, TP53), cujas alterações nas células tumorais foram seleccionadas, em primeira instância, pelos benefícios que oferecem à proliferação celular, revogação dos controlos citostáticos e atenuação da apoptose.[59,60] A dependência da glicólise pode ser ainda mais acentuada nas condições hipóxicas em que se encontram diversos tumores: o sistema de resposta à hipóxia actua de forma pleiotrópica, na sobre-regulação dos transportadores de glicose e de múltiplas enzimas da via glicolítica.[59,60,65] Para além disso, tanto a oncoproteína ras como a hipóxia podem, de forma independente, fazer aumentar os níveis dos factores de transcrição HIF1α e HIF2α (factores de crescimento de indução de hipóxia, 1 α e 2 α ou, do inglês, *Hypoxia-Inducible Factor*) que, por sua vez, sobre-regulam a glicólise.[65–67]

A lógica racional para o *switch* glicolítico das células cancerígenas tem sido ilusória, dada a relativamente baixa eficiência de produção de ATP, associada à fosforilação mitocondrial oxidativa. De acordo com uma teoria há muito esquecida, mas recentemente recuperada e revista, o aumento da glicólise permite a derivação de intermediários glicolíticos em várias vias biossintéticas, incluindo aquelas que originam nucleósidos e aminoácidos. Esta ocorrência facilita, por sua vez, a biossíntese de várias macromoléculas e organelos necessárias à ligação de novas células.[68,69] Para além disso, o metabolismo do tipo enunciado por *Warburg* parece estar presente em vários tecidos embrionários de divisão rápida, o que uma vez mais sustenta a teoria de um papel de suporte biossintético em grande escala de programas necessários à proliferação celular activa.[15]

A evasão à destruição imunitária constitui a segunda característica emergente do cancro. A teoria de vigilância imunitária propõe que células e tecidos se encontram sob constante monitorização por um sistema imunitário sempre alerta e que tal vigilância imunitária é responsável pelo reconhecimento e destruição da vasta maioria de células cancerígenas incipientes e, portanto, de tumores embrionários. De acordo com esta lógica, os novos tumores sólidos, terão conseguido, de alguma forma, evitar a detecção pelos diversos braços do sistema imunitário, ou limitar a extensão da eliminação imunológica, escapando à erradicação.[15] Grande parte dos tumores existentes é induzida por vírus, o que sugere que o controlo desta classe de cancros depende normalmente da redução da carga vírica nos indivíduos infectados, em parte pela eliminação de células infectadas com vírus. Contudo, o sistema imunitário aparenta operar também como uma barreira significativa à formação e progressão tumorais em pelo menos uma parte de cancros não induzidos por vírus.[70–73]

3. O Cancro da Mama

3.1 Epidemiologia

Em todo o mundo, o cancro da mama ocorre em cerca de ¼ de todos os cancros nas mulheres. É a doença oncológica de maior incidência global entre mulheres, independentemente do nível de desenvolvimento regional. O mapa da incidência mundial de cancro da mama em mulheres, em 2012, encontra-se representado na figura 6. Em 2012 foram diagnosticados aproximadamente 1,7 milhões de novos casos da doença (cerca de 25,1% de todos os cancros) e ocorreram 521,907 mortes provocadas pela mesma.[7,74] Em ambos os sexos este o segundo tipo de cancro mais diagnosticado de entre todos (~11,9%).[2] Estimativas apontam para 2,0 milhões de novos casos em todo o mundo em 2015, número que deverá continuar a aumentar até aos 2,4 milhões em 2030.[2] Calcula-se que também em 2030 o cancro da mama deverá provocar 770,724 mortes entre mulheres, em todo o mundo.[2] A probabilidade de uma mulher desenvolver cancro da mama durante o seu tempo de vida aumentou de 1 em 11, em 1975 para 1 em 8, em 2012.[7]

O cancro da mama é, assim, a quinta causa de morte de entre todas (458,000 mortes) em ambos os sexos, continuando, no entanto, a ser a causa de morte mais frequente entre mulheres, tanto em regiões em desenvolvimento (269,000 ou 12,7% do total de mortes) como desenvolvidas, nas quais o número estimado de 189,000 é muito semelhante ao número estimado de mortes por cancro do pulmão (188,000 mortes).[75]

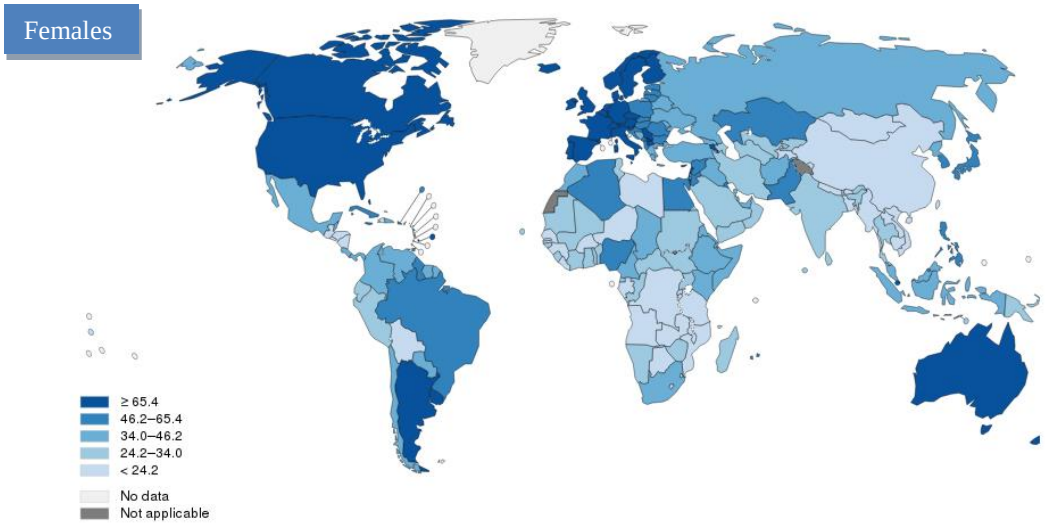


Figura 6. Distribuição mundial standadizada por idade, da incidência de cancro da mama entre mulheres, em 2012.[2]

Apesar do aumento do número de novos casos, as taxas de mortalidade têm vindo a diminuir ligeiramente nos países Ocidentais, nomeadamente em Portugal, com cerca de 90% das mulheres com este diagnóstico a sobreviverem por um período de pelo menos 5 anos, tal como é possível verificar na figura 7.[76] Esta diminuição é frequentemente associada a uma vigilância mais apertada, conseguida através da implementação de programas de rastreio e da realização de maior número de mamografias de controlo. Também os recentes avanços das técnicas imagiológicas, que permitem a detecção de lesões mamárias não palpáveis e a consequente detecção dos tumores mamários em estádios iniciais da doença, determinaram parte do sucesso verificado na redução das taxas de mortalidade. No entanto, a enorme diminuição verificada ao longo dos anos deve ser sobretudo atribuída a esquemas terapêuticos optimizados e mais eficazes, direccionados pelas características histológicas dos tumores e pela recente divisão em subtipos histológicos.[75,77] Apesar de tudo, cerca de 20-30% das mulheres com tumores da mama primários, sem envolvimento de gânglios linfáticos axilares na altura do diagnóstico, desenvolvem doença recorrente à distância.[78]

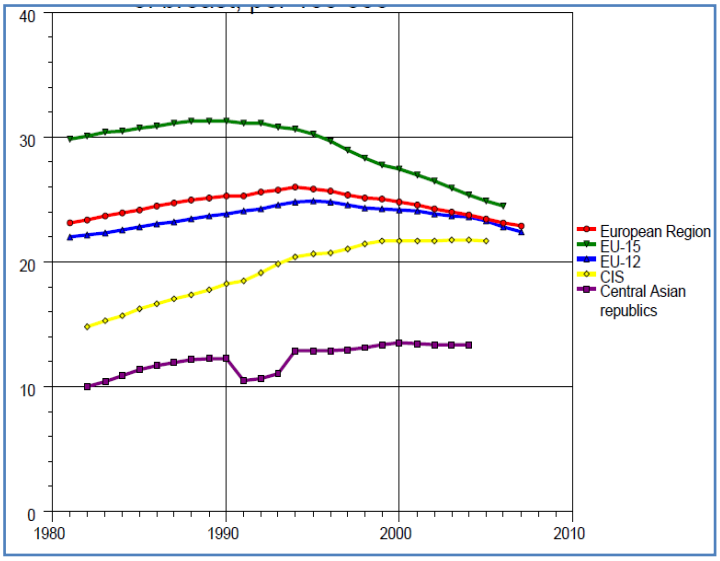


Figura 7. Taxas de morte padronizadas, por neoplasia maligna da mama em mulheres, por 100,000 entre 1980 e 2008 (CIS, do inglês, *Commonwealth of Independent States*).[79]

De acordo com a figura 8, esta patologia é também a primeira causa de morte por neoplasia nas mulheres portuguesas, sendo uma em cada treze mulheres vítima deste tipo de neoplasia maligna (17% do total de mortes por causa oncológica).[80] Por ano, são registados cerca de 4500 novos casos de cancro da mama em Portugal.[13]

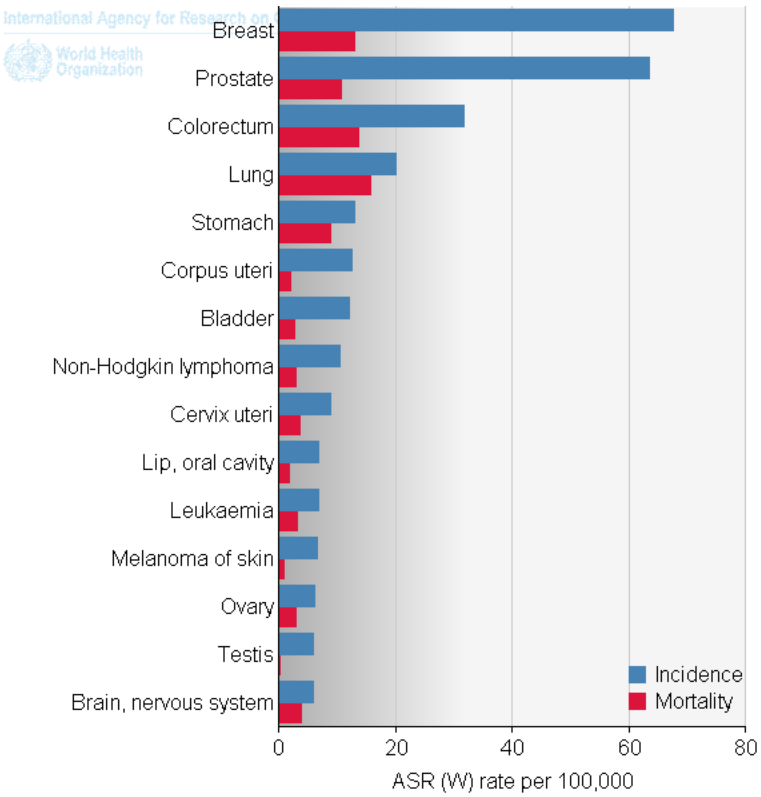


Figura 8. Distribuição, por tipo de cancro, das taxas estimadas de incidência e mortalidade, padronizadas por idade, em Portugal e em ambos os sexos, em 2012.[13]

A incidência de cancro da mama varia substancialmente na presença ou ausência de determinados factores de risco bem estabelecidos, sendo os dois factores mais proeminentes o género e a idade.[81] Subjacente a estes dados encontra-se o facto de o cancro da mama poder também ocorrer nos homens, embora a sua incidência seja muito menor, correspondendo a cerca de 1% do número total de cancros da mama diagnosticados.[13] A incidência de cancro da mama aumenta bastante com a idade, sendo de cerca de 10 casos por 100,000 mulheres entre os 20 e os 30 anos e mais de 200 por 100,000 em mulheres com idade superior a 60 anos, tal como representado na figura 9.[81]

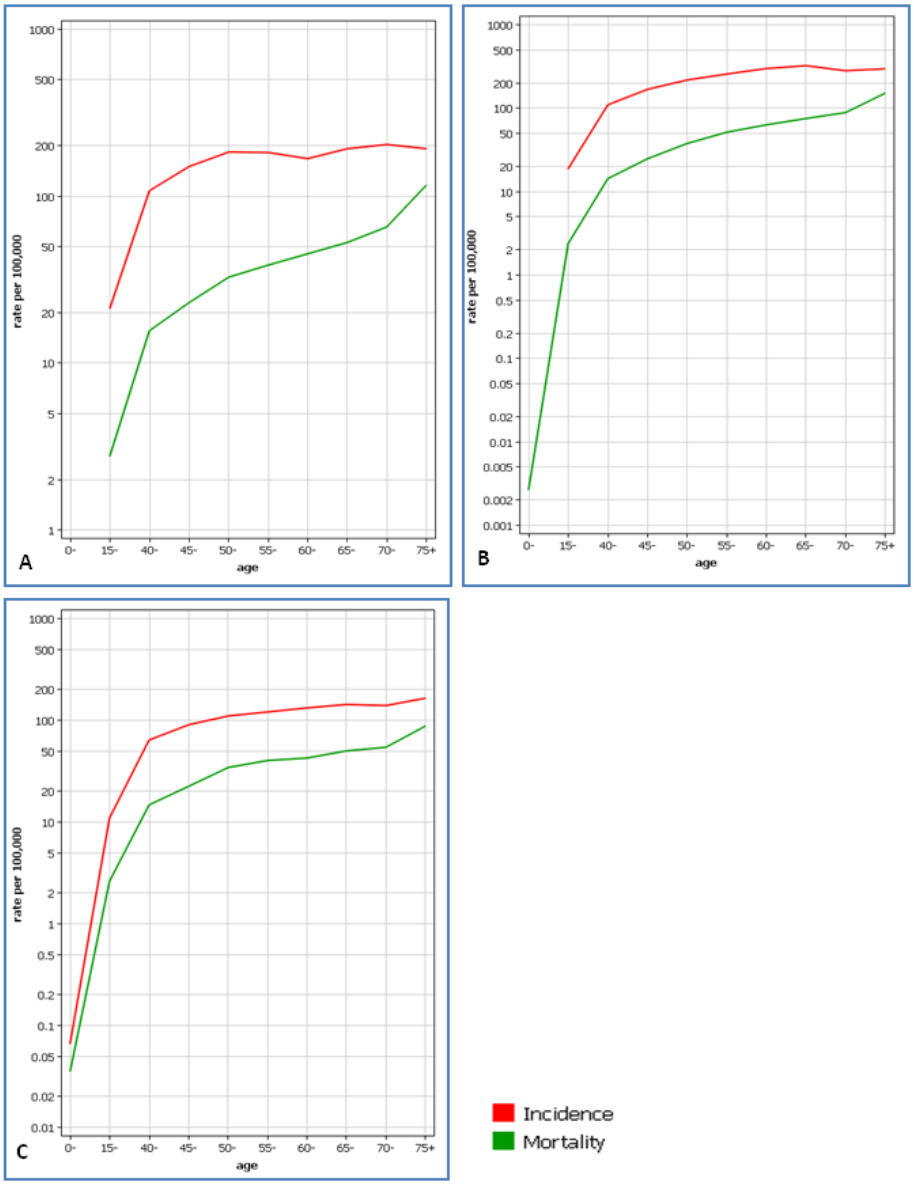


Figura 9. Curvas de distribuição específica por idade do cancro da mama. Tendência de incidência e mortalidade/100,000 habitantes/idade. **(A)** em Portugal; **(B)** na União Europeia; **(C)** em todo o mundo.[74]

Nos últimos anos, avanços importantes têm vindo a ser realizados de forma a clarificar os mecanismos subjacentes ao processo de carcinogénese, bem como a identificar novos factores predictivos e prognósticos da doença.[82,83] Estima-se, no entanto, que cerca de 30% de todos os casos de cancro da mama (tanto invasivos como CDIS – carcinoma ductal *in situ*), sejam sobre-diagnosticados e sobre-tratados. O sobre-diagnóstico, uma desvantagem da triagem, consiste no diagnóstico de patologias cancerígenas que não estariam presentes no período de vida do doente e deriva, quase inevitavelmente, na sobre-terapêutica, uma vez que qualquer tratamento, nesse caso, é considerado desnecessário. A sobre-terapêutica pode ainda ocorrer sempre que sejam

administradas formas de terapia mais agressivas do que as necessárias. O sobre-diagnóstico tende a aumentar com os desenvolvimentos tecnológicos, que incluem a mamografia digital, detecção auxiliada por computador e técnicas de biópsia melhoradas.[75] Assim, no contexto do sobre-diagnóstico, muitos dos tumores que são detectados precocemente nunca se tornariam formas metastáticas de cancro da mama, capazes de pôr em risco a vida do doente. Porém, infelizmente, alguns dos tratamentos utilizados nestas formas "prematuras" de cancro, possuem efeitos secundários, esses sim, com risco de vida para o doente.[75] Ideal será, no futuro, descobrir formas de diagnóstico capazes de distinguir o comportamento biológico dos tumores detectados, de forma a articular uma correcta avaliação da necessidade (ou não) de tratamento e da forma terapêutica a aplicar.

3.2 Anatomia e Fisiologia Normais da Mama

A glândula mamária, localizada na parede torácica anterior, é composta por tecido glandular com um estroma denso e fibroso. O tecido glandular é constituído por um sistema de lóbulos epiteliais ramificados (pequenos alvéolos secretores denominados ácinos que, no seu conjunto, constituem o lóbulo) que se agrupam em cerca de 8 a 15 ductos que, por sua vez, se estendem radialmente ao longo do estroma, terminando em unidades ducto-lobulares terminais (UDLT), as unidades anátomo/funcionais da mama, que confluem no mamilo, tal como representado na figura 10.[84,85] Múltiplos ductos *minor* e *major* são responsáveis por unir as unidades lobulares secretoras de leite ao mamilo. Os ductos de menores dimensões progridem ao longo da mama, convergindo em ductos colectores de maior calibre, que desembocam no seio galactóforo situado na base do mamilo. Cada sistema de ductos apresenta uma anatomia única: os sistemas mais pequenos incluem apenas uma porção de um quadrante, enquanto os sistemas maiores podem abranger mais do que um quadrante. A periferia de cada sistema sobrepõe-se ao longo das suas fronteiras radiais.[86] Os ductos e os lóbulos são revestidos por duas camadas de células: uma camada mioepitelial contráctil, mais externa, e uma camada luminal epitelial secretora, mais interna. A camada mioepitelial encontra-se ligada à membrana basal e possui uma função estrutural de suporte e de contractilidade. A camada luminal epitelial é responsável pela produção e secreção do leite.[87] O crescimento e desenvolvimento normais da mama são regulados por uma interacção complexa de vários factores hormonais e de crescimento. Entre estes factores encontram-se hormonas e factores de crescimento segregados pelas próprias células mamárias e hormonas e factores de crescimento produzidos por células do estroma, que assumem um controlo parácrino das células epiteliais mamárias.[88] Estrogénios, progesterona, androgénios e glucocorticóides, prolactina, hormonas tiroideias, insulina, factores de crescimento IGF-1 (do inglês *Insulin-like Growth Factor*, ou factor de crescimento tipo insulina 1), IGF-2, FGF (do inglês *Fibroblast*

Growth Factor, ou factor de crescimento fibroblasto) e EGF/TGF-α (do inglês *Epidermal Growth Factor*, ou factor de crescimento epidérmico e *Transforming Growth Factor – alpha* ou factor de crescimento para transformação - alfa), são exemplos destes elementos reguladores.[89–91] A glândula mamária é o único órgão que não está totalmente formado na altura do nascimento, atingindo a sua diferenciação completa aquando da estimulação hormonal da gravidez e da lactação.[83,92,93] Os ductos imaturos ramificam-se na puberdade de modo a formar cerca de 15-20 lóbulos. Este processo envolve a multiplicação das células ductais e a expansão da sua população de células estaminais. Depois da puberdade e até aproximadamente aos 45 anos, o tecido ductal fica sujeito, mensalmente, a ciclos de proliferação e apoptose. Estes ciclos mensais são controlados principalmente por estrogénio e progesterona.[85,94] No decurso da gravidez, o desenvolvimento das UDLT é acelerado em resposta a hormonas do corpo amarelo, placenta e hipófise, de forma a preparar-se para a lactação. Após a lactação, os lóbulos atrofiam e o tamanho total da mama normal diminui consideravelmente. Por fim, na menopausa, os lóbulos e o estroma involuem e, numa idade avançada, os lóbulos podem mesmo desaparecer na sua maioria, restando somente os ductos, atribuindo à mama um padrão morfológico muito semelhante ao da mama masculina.[93] O estroma interlobular da glândula mamária é essencialmente constituído por tecido conjuntivo fibroso denso e tecido adiposo que rodeia e suporta os ductos, lóbulos e vasos sanguíneos e linfáticos, enquanto os lóbulos são revestidos por um estroma específico do tecido mamário, que responde a estímulos hormonais e que se caracteriza pela presença de linfócitos, designado de estroma intralobular.[95] A maior parte das lesões hiperplásicas e neoplásicas da mama tem origem na UDLT.[85,95]

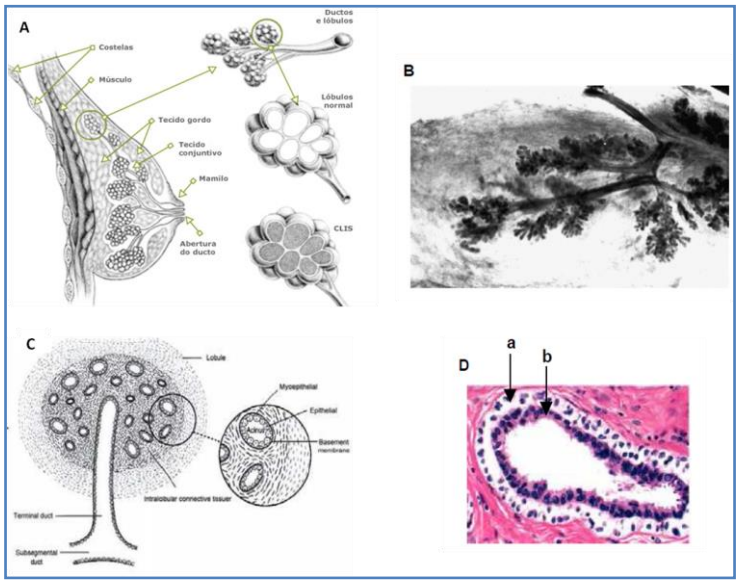


Figura 10. A glândula mamária. **(A)** Esquema representativo da anatomia básica da mama normal (Adaptado de Portal de Oncologia Português). **(B)** Preparação de tecido mamário de uma mulher nulípara. Azul de Toluidina (Amplificação 25x).[96] **(C)**

Esquema representativo da UDLT, evidenciando a relação espacial entre epitélio, mioepitélio e estroma. **(D)** Imagem histológica do ducto mamário, mostrando a camada de células epiteliais luminais mais interna **(a)** Coloração H&E; Amplificação 100x; **(b)** e a camada de células mioepiteliais basais mais externa.[97]

3.3 Factores de Risco

A origem do cancro da mama não pode ser explicada por um único agente etiológico. De um modo geral, são necessários dois tipos de alterações moleculares para que ocorra patologia oncológica: mutações na molécula de DNA e indução da proliferação celular. Podem ocorrer mutações no DNA em genes críticos responsáveis pela regulação do crescimento celular, apoptose, diferenciação e replicação cromossómica, que podem activar ou inactivar o gene em causa. A proliferação, por seu lado, exerce os seus efeitos na formação tumoral ao promover a expansão de uma população de células. A indução da proliferação ocorre através de dois mecanismos: agentes mitogénicos, que induzem directamente a divisão e proliferação celular, ou agentes tóxicos, que induzem a proliferação nas células sobreviventes que repovoam um tecido danificado.[94] Os factores predisponentes descritos para o cancro da mama encontram-se sumariamente listados na tabela 1, bem como o risco relativo associado à sua ocorrência.

Tabela 1. Factores predisponentes para o cancro da mama e risco relativo associado.[98]

Risco Relativo	Factor
Risco Relativo > 4.0	• Sexo feminino; • Idade (+ 65 *vs* < 65 anos, embora o risco aumente ao longo de todas as idades até aos 80 anos); • Algumas mutações genéticas hereditárias relacionadas com o cancro da mama (BRCA1 e/ou BRCA2); • Dois ou mais familiares em primeiro grau com cancro da mama diagnosticado num estádio inicial; • História pessoal de cancro da mama; • Densidade mamária.
Risco Relativo: entre 2.1 e 4.0	• Um familiar em primeiro grau com cancro da mama; • Hiperplasia atípica confirmada por biópsia; • Elevadas doses de radiação no tórax; • Elevada densidade mineral óssea.
Risco Relativo: entre 1.1 e 2.0 (factores que afectam a quantidade de hormonas circulantes)	• Idade tardia da primeira gravidez completa (> a 30 anos); • Menarca precoce (< a 12 anos); • Menopausa tardia (> a 55 anos);

	• Ausência de gestações levadas a termo; • Ausência de amamentação; • Utilização recente de contracepção oral; • Utilização recente e a longo prazo de terapêutica hormonal de substituição.
Outros Factores	• Obesidade (pós-menopausa); • História pessoal de carcinoma do endométrio, do ovário ou do cólon; • Consumo de álcool; • Altura; • Estatuto social elevado; • Herança judaica.

3.3.1 Factores Endócrinos e Reprodutivos

Numerosos estudos sugerem uma forte ligação entre estrogénios, androgénios e desenvolvimento de cancro da mama. Alguns estudos referem mesmo que o risco de cancro da mama em mulheres cujos níveis de estrogénio se encontram no quintil superior do hiato de expressão desta hormona é o dobro do risco em mulheres cujos níveis de estrogénio se encontram no quintil inferior.[94] Os mesmos resultados foram observados para outras hormonas estudadas: estrona, sulfato de estrona, androstenediona, testosterona, deidroepiandrosterona e sulfato de deidroepiandrosterona. Outros estudos referem que os níveis das hormonas sexuais quantificados entre 5 e 13 anos antes do diagnóstico, se encontram elevados em casos de cancro da mama, quando comparados com controlos. A associação de estrogénios circulantes com o risco de cancro da mama aparenta estar presente, independentemente de a forma de cancro em causa apresentar ou não receptores de estrogénios.[99,100] Certas características, relacionadas com a história reprodutiva da mulher, como menarca precoce, menopausa tardia, gestações tardias e em pequeno número e a exposição prolongada a contraceptivos orais, estão associadas a um aumento do tempo de exposição de uma mulher ao longo da sua vida aos estrogénios, tanto endógenos como exógenos. Esta exposição prolongada, em conjunto com um longo período de ciclos de proliferação, leva a um aumento da probabilidade de ocorrência de alterações genéticas. Por outro lado, é sabido que os estrogénios têm um papel importante na indução da neoplasia da mama dado terem a capacidade de promover o desenvolvimento de uma população neoplásica já existente desconhecendo-se, no entanto, o mecanismo carcinogénico. Uma outra explicação para a implicação dos estrogénios no cancro da mama, relaciona-se com a própria estrutura desta hormona. Os metabolitos dos estrogénios, em particular os difenólicos (catecolestrogénios, que

são aductos oxidantes) podem ser rapidamente inactivados pela enzima COMT (catecol-O-metiltransferase), como é representado na figura 11. Esta metabolização é essencial porque os catecolestrogénios são tóxicos, tanto por formarem espécies altamente reactivas de oxigénio (que lesam o DNA), como por poderem tornar-se parcialmente oxidados e originar semiquinonas, que possuem a capacidade de reagir com macromoléculas como o DNA e induzir mutações no genoma.[84] Existem polimorfismos da enzima COMT e, dependendo do tipo de polimorfismo, assim se verifica uma maior ou menor sensibilidade aos estrogénios. Por outro lado, alguns estudos sugerem que a contribuição dos androgénios para o risco de cancro da mama se deve sobretudo ao seu papel como substrato para a produção de estrogénios, muito embora um outro estudo indique que os androgénios aparentam estar relacionados com o aumento do risco de doença, independentemente dos estrogénios.[101] Adicionalmente, muitos genes envolvidos na biossíntese e metabolismo dos estrogénios apresentam polimorfismos, supondo-se, assim, neste caso, uma interacção significativa entre os genes e o ambiente.

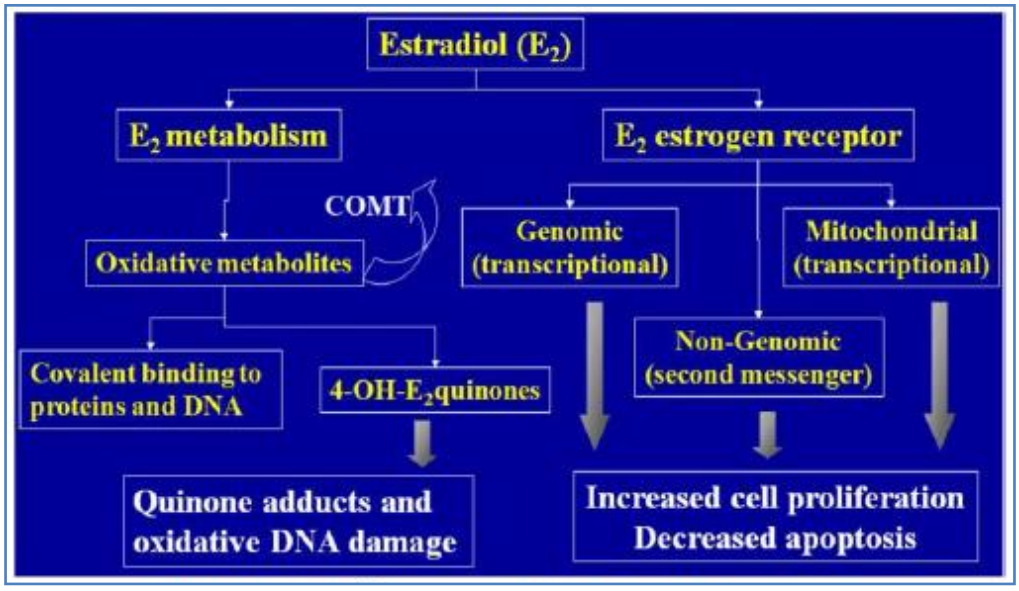


Figura 11. Acção oncogénica dos estrogénios.[102]

3.3.2 História Familiar

Aproximadamente 1/3 das mulheres com menos de 50 anos de idade e com cancro da mama tem um ou mais parentes em primeiro grau com esta neoplasia maligna.[103] Por outro lado, apenas 3 a 5% dos cancros da mama que ocorrem em doentes com idades compreendidas entre 60 e 80 anos de idade têm componente hereditária.[104] Cerca de 5-10% dos casos de cancro da mama resultam de mutações germinativas hereditárias em genes de susceptibilidade de cancro da

mama, como o BRCA1 e BRCA2 (do inglês, *Breast Cancer Associated Gene* (1 e 2)). Estima-se que 90% dos cancros da mama hereditários sejam causados por mutações nestes dois genes supressores tumorais, envolvidos na regulação transcripcional e na manutenção da integridade genómica. As mutações nos genes BRCA conferem um risco cumulativo de 56-84% de cancro da mama e de 15-45% de cancro do ovário. Mutações no BRCA1 estão associadas a famílias com cancro da mama e do ovário e raramente a famílias com cancro da mama masculino, enquanto mutações no BRCA2 estão também associadas a famílias com cancro da mama masculino.[104,105]

3.3.3 Factores Demográficos e Culturais

Diferentes grupos étnicos apresentam taxas divergentes de incidência de cancro da mama. Os grupos da Ásia/Pacífico têm muito menor incidência do que os grupos da Europa Ocidental, aos quais corresponde a taxa de incidência mais elevada. Dados epidemiológicos revelam que esta elevada incidência nos países ocidentais está relacionada com um estilo de vida caracterizado por uma dieta altamente calórica, rica em lípidos e proteínas animais, associado à ausência de exercício físico.[106] As mulheres judias, especialmente com uma história familiar de cancro da mama, têm um risco quatro vezes maior de vir a desenvolver esta neoplasia do que uma mulher nas mesmas condições pertencente a qualquer outro grupo étnico.[107] Mutações no gene BRCA1, um gene de susceptibilidade no cancro da mama, podem ser encontradas em 1% da população dos Judeus Ashkenazi.[107,108] Estudos de populações migratórias têm vindo a demonstrar que quando um grupo de baixo risco migra para regiões de alto risco, a sua incidência aumenta rapidamente, aproximando-se das taxas de incidência da população para a qual migrou num período de uma a duas gerações.[109]

3.3.4 Factores Ambientais

Um número significativo de estudos entre a população feminina comprova que a radiação ionizante causa cancro da mama. Esses estudos variam entre o impacto da bomba atómica Japonesa, de raios-X diagnósticos e de tratamentos com radiação para condições benignas ou malignas. Os mesmos estudos referem a existência de uma relação linear dose/resposta para o cancro da mama e indicam que a exposição a radiação nas duas primeiras décadas de vida está associada a um aumento significativo do risco de ocorrência de cancro da mama. Este aumento é várias vezes superior ao risco verificado caso a exposição ocorra em idade adulta, enquanto a exposição após os 50 anos de idade confere baixo risco de ocorrência deste tipo de cancro. Outros estudos referem ainda que pequenas doses de radiação implicam um efeito cumulativo de indução

de cancro da mama, semelhante ao risco que existiria se a mesma dose acumulada fosse entregue numa única exposição. No entanto, a maior parte das exposições que resulta da utilização de equipamentos e técnicas de diagnóstico modernas (os), é suficientemente reduzida para que qualquer risco de indução de cancro da mama seja indetectável.[110,111] Já a maior parte dos estudos existentes que pretendem avaliar o impacto da exposição a campos electromagnéticos (EMFs, do inglês, *Electro-Magnetic Fields*) no risco de cancro da mama em mulheres, revela não se verificar qualquer associação.[112–114] Vários estudos demonstraram a existência de um risco moderado de cancro da mama associado ao consumo de álcool.[94,115] O mecanismo pelo qual o consumo de álcool influencia a ocorrência de cancro da mama, parece estar relacionado com o aumento do nível de estrogénios endógenos, pelo que, é sobretudo associado ao aumento de tumores que expressam receptores hormonais. De modo semelhante, o consumo de álcool é igualmente implicado no aumento da incidência de tumores lobulares, uma vez que também estes expressam mais frequentemente receptores hormonais do que os tumores de origem ductal.[116–118] A actividade física frequente tem um efeito protector no que diz respeito ao cancro da mama pós-menopausa. Este efeito pode ser confundido ou ser secundário a variações no IMC (índice de massa corporal), uma vez que a obesidade constitui também um factor de risco conhecido para cancro da mama, já que o tecido adiposo é um local de síntese de estrogénios (conversão de androgénios a estrogénios pela aromatase).[119,120] Alguns estudos indicam que o consumo regular de drogas anti-inflamatórias não esteróides, como aspirina e ibuprofeno, acarreta um efeito modesto de protecção contra a incidência de cancro da mama. No entanto, este efeito não é considerado ainda cientificamente comprovado nem generalizado.[121–126]

3.4 Classificação do Cancro da Mama

3.4.1 Classificação Histológica

A génese do cancro constitui um processo através do qual células normais atravessam uma série de fases que culminam na transformação das mesmas em células malignas que proliferam de forma descontrolada. Diversos autores advogam a teoria de que muitos dos cancros da mama derivam de uma sequência de passos que tem início no aumento descontrolado do número de células mamárias normais (hiperplasia). Desse aumento descontrolado do número de células normais resulta o aparecimento de células mamárias atípicas (hiperplasia atípica ou displasia), ao que se segue o aparecimento de formas de carcinoma *in situ* (não invasivo) e, finalmente, o surgimento de variantes de carcinoma invasivo, tal como representado na figura 12. No entanto, nem todas as formas de cancro da mama seguem este padrão de progressão, havendo

ainda a considerar a variável velocidade de progressão, que é altamente variável, mesmo para as formas de cancro que progridem de acordo com o modelo descrito. Alguns cancros da mama parecem mesmo nunca passar pela fase de progressão *in situ* da doença. Aproximadamente 90% dos cancros de mama têm início nos canais lactíferos ou galactóforos (ductal) ou nas glândulas galactíforas (lobular).[127–132]

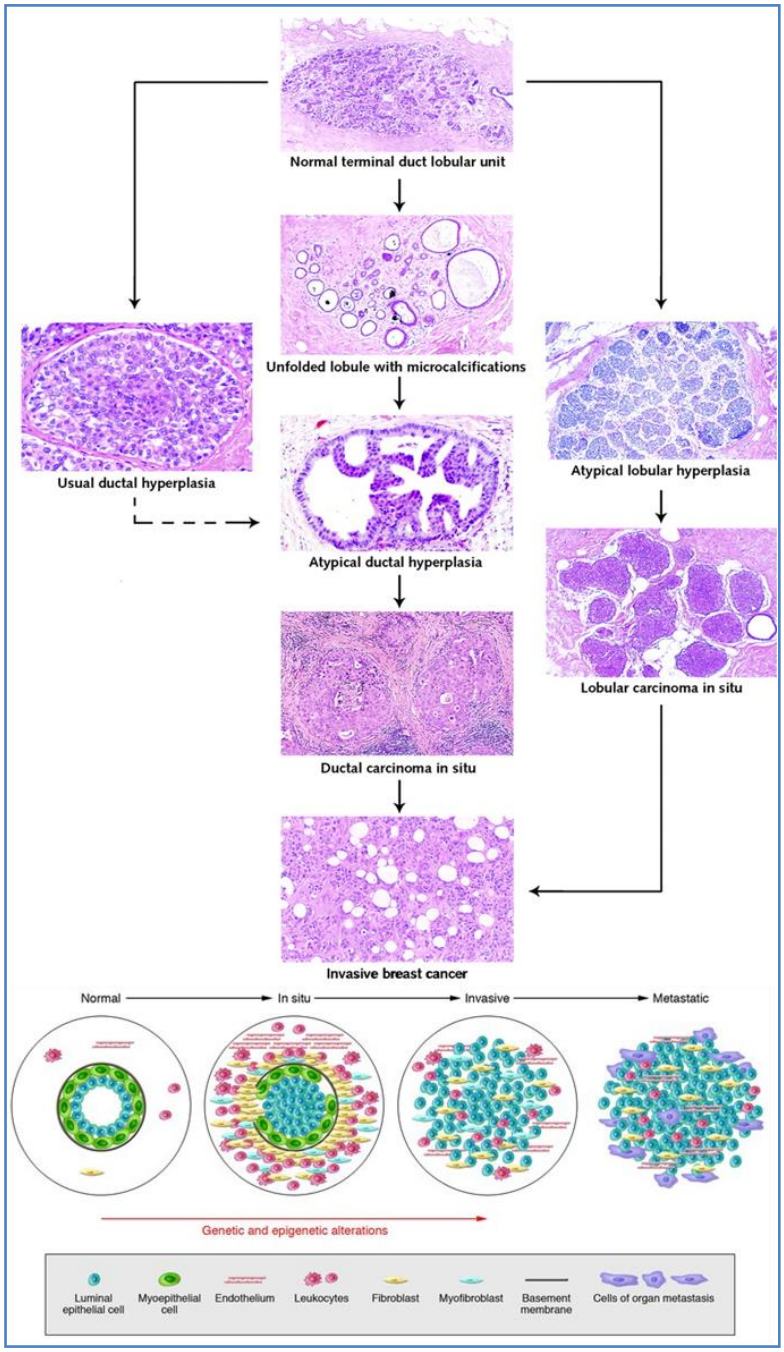


Figura 12. Proposta evolução histológica da progressão tumoral no epitélio mamário. Vista esquemática das alterações celulares que ocorrem no carcinoma *in situ*, carcinoma invasivo e carcinoma metastático. Os ductos mamários normais são compostos por uma

> membrana basal e por uma camada de células luminais epiteliais e mioepiteliais. São vários os tipos de células que compõem o estroma e incluem leucócitos, fibroblastos, miofibroblastos e células endoteliais. Nos carcinomas *in situ* as células mioepiteliais são epigenética e fenotipicamente alteradas e o seu número é reduzido devido à degradação da membrana basal. Ao mesmo tempo, o número de fibroblastos, miofibroblastos, linfócitos e células endoteliais do estroma, aumenta. A perda de células mioepiteliais e da membrana basal, resulta em carcinomas invasivos, nos quais as células tumorais podem invadir os tecidos circundantes e migrar para órgãos distantes conduzindo, eventualmente, a metastização.[133,134]

No carcinoma intra-ductal as células neoplásicas não invadem a membrana basal, enquanto no carcinoma ductal invasivo a membrana basal é atingida e as células neoplásicas adquirem características de células invasivas. A carcinogénese ocorre com a participação de todas as células do tecido, pelo que, o microambiente se mostra importante para o desenvolvimento da neoplasia. Na passagem das células normais dos ductos mamários a células neoplásicas, os fibroblastos transformam-se em miofibroblastos, produzindo colagénio e alterando o estroma do tumor (os tumores malignos apresentam consistência mais dura do que os tumores benignos). Assim, para além das mutações que ocorrem nas células ductais, as células mioepiteliais e os fibroblastos apresentam frequentemente expressão alterada de genes de citocinas (CxCl-12 e CxCl-14), responsáveis pela produção de moléculas que promovem a proliferação celular e a invasão do carcinoma.

O cancro da mama apresenta uma ampla variabilidade no que diz respeito ao tipo histológico, história natural, comportamento clínico e prognóstico. É classificado de acordo com o tipo de tecido no qual se inicia e com a extensão da sua disseminação, podendo ter origem nas glândulas lactíferas, nos canais lactíferos, no tecido adiposo ou no tecido conjuntivo. Os diferentes tipos de cancro de mama evoluem de forma distinta, apresentando prognóstico mais favorável, naturalmente, os carcinomas não invasivos. Outros tumores são mais agressivos, crescendo e disseminando-se rapidamente, caso dos carcinomas invasivos. Tipos histológicos mistos podem ocorrer em cerca de 28% dos casos de carcinoma da mama, sendo as associações mais frequentes de carcinoma ductal invasivo com carcinoma tubular ou com carcinoma colóide. O tipo histológico mais comum de cancro da mama é o carcinoma ductal invasivo, com uma incidência de cerca de 80-85%. Os tumores de tipo histológico *in situ* constituem 10-15% de todos os carcinomas da mama. Para que o tipo histológico tenha valor prognóstico, é necessária uma padronização da classificação histológica de tumores malignos da mama. Assim, segundo classificação da OMS em 2003, os tumores malignos mamários podem ser divididos em quatro tipos: tumores malignos epiteliais ou carcinomas que, por sua vez, englobam carcinomas não invasivos (*in situ*) e carcinomas invasivos, tumores mistos epiteliais e mesenquimais, tumores

malignos diversos e tumores malignos não classificados, ou seja, tumores que não podem ser englobados em qualquer das restantes categorias. Relativamente aos carcinomas *in situ*, são considerados o carcinoma ductal (CDIS) e o carcinoma lobular (CLIS). O CDIS é a forma mais comum de cancro da mama não invasivo, responsável por mais de 15% dos cancros de mama diagnosticados nos Estados Unidos, encontrando-se a sua representação esquemática na figura 13.

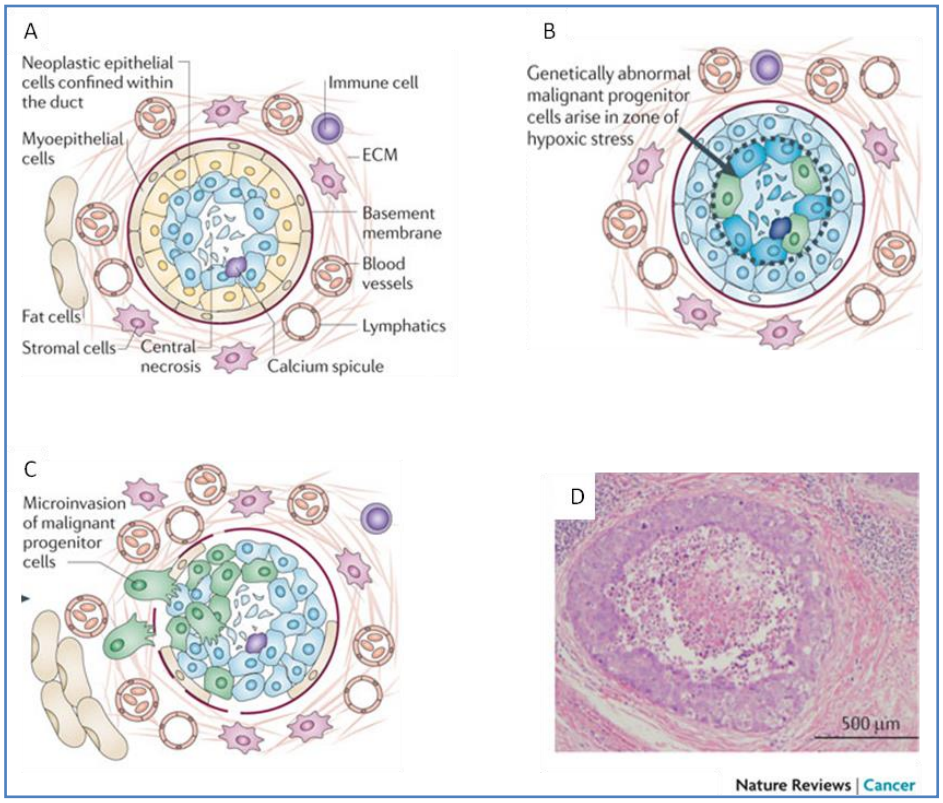


Figura 13. (A) Microecologia de lesões de carcinoma ductal *in situ* (CDIS) da mama. As células neoplásicas do CDIS proliferam no interior do ducto mamário, que é ligado por uma membrana basal e um rebordo de células mioepiteliais localizado no lado luminal da membrana basal. O ducto normal é composto por uma única camada epitelial. Já as lesões de CDIS incluem múltiplas camadas de células que se acumulam em direcção ao interior do lúmen. Do lado exterior da membrana basal o estroma contém matriz extracelular (ECM), vasos linfáticos e sanguíneos, células do estroma, imunitárias e adipócitos. Todos estes componentes participam no processo de carcinogénese, promovendo ou suprimindo células progenitoras malignas que podem surgir da massa de células que se acumulam no ducto. **(B)** Ocorre necrose no centro do ducto uma vez que estas células se encontram à distância radial mais distante do aporte de oxigénio e nutrientes, que sofrem difusão a partir dos vasos localizados no exterior do ducto. As células em proliferação no microambiente intra-ductal encontram-se sob elevado stress, uma vez que estão privadas de nutrientes, hipóxicas, aglomeradas e sofrem de stress oxidativo. **(C)** As células estaminais mamárias pluripotentes são obrigadas a adaptar-se para sobreviverem em microambientes agressivos. A adaptação

promove a supressão de apoptose face à instabilidade genética e pode conduzir à geração de células progenitoras malignas geneticamente anormais antes do início da invasão. A invasão tumoral é associada à perda de células mioepiteliais, angiogénese peri-ductal, fragmentação da membrana basal e quimiotaxia radial em direcção ao exterior. **(D)** Secção corada com hematoxilina e eosina (amplificação original de 10x) de uma lesão de comedo-CDIS, exibindo necrose central, estroma e linfócitos.[135]

O termo *in situ* significa "no local", pelo que o carcinoma ductal *in situ* se refere a uma forma de proliferação celular descontrolada mas confinada ao ducto mamário. Alguns especialistas julgam mesmo tratar-se de uma condição pré-cancerígena, tal como já foi anteriormente referido. Esta teoria encontra-se representada na figura 14, enquanto outros consideram que as alterações celulares que se verificam nesta condição vão além da hiperplasia atípica, classificando-as, portanto, de carcinoma.

A presença de carcinoma *in situ* sugere que, aparentemente, tenham ocorrido a maioria das alterações que originam o cancro, como acumulação de alterações genéticas, expressão oncogénica e perda de regulação do ciclo celular. As lesões de CDIS são frequentemente únicas, raramente palpáveis, detectadas normalmente por mamografias de rotina nas quais se apresentam sob a forma de micro-calcificações. Sendo uma forma de cancro detectada e tratada precocemente, a taxa de sobrevivência a 5 anos é de cerca de 100%.[127] O CDIS é geralmente subdividido em 4 subtipos: cribiforme, micro-papilar, comedocarcinoma e CDIS do tipo sólido.

O CLIS, outra forma de carcinoma não invasivo conhecida, é caracterizado por alterações nas células das glândulas galactóforas e ocorre geralmente antes da menopausa. É menos comum e acarreta um risco ligeiramente inferior de carcinoma invasivo do que o CDIS, sendo também designado carcinoma intra-epitelial lobular. A maioria dos especialistas considera que esta condição não se trata nem de cancro nem de lesão pré-maligna, mas de um marcador que identifica mulheres com risco aumentado de sofrerem de carcinoma invasivo, risco esse que se mantém elevado durante mais de 2 décadas. O CLIS inclui tipicamente múltiplas lesões e é frequentemente bilateral, não podendo ser detectado através da palpação nem visualizado na mamografia, sendo detectado como achado da biópsia mamária. Entre 25 e 30% das mulheres que apresentam este tipo de tumor acabam por desenvolver cancro da mama invasivo.[127]

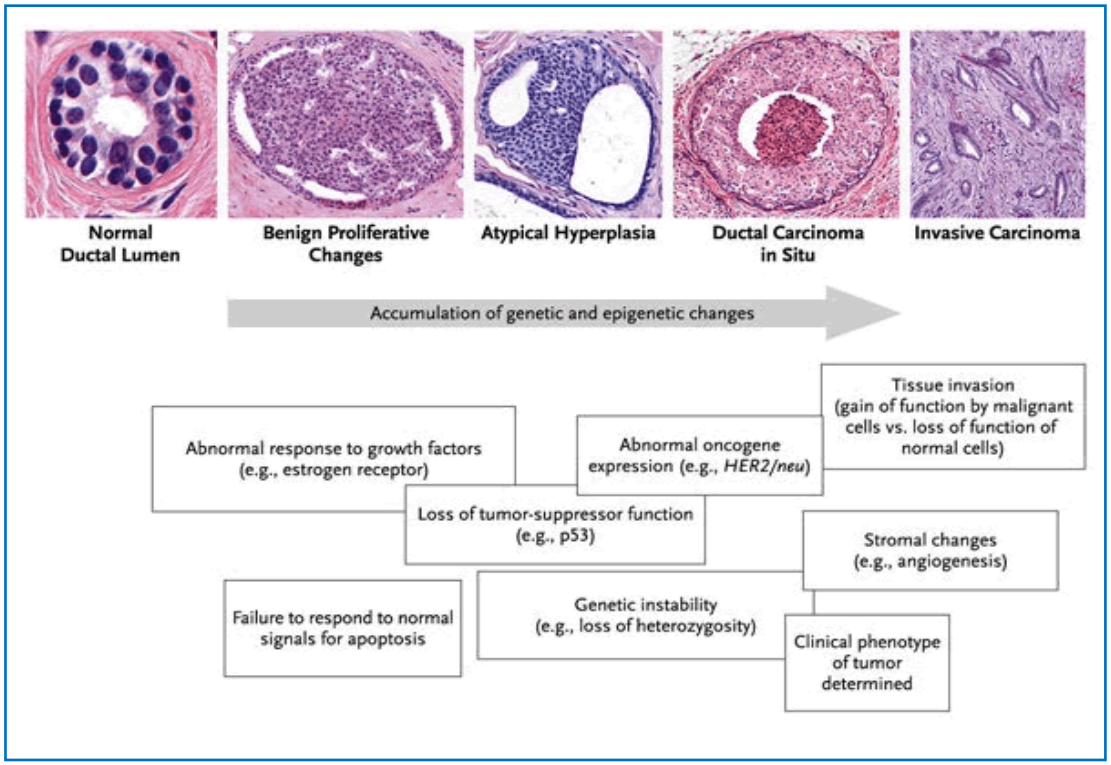


Figura 14. Eventos biopatológicos associados ao carcinoma ductal *in situ* e ao carcinoma ductal invasivo.[136]

Relativamente aos carcinomas invasivos, existem diversas formas no que respeita ao cancro da mama; os mais frequentes são o carcinoma ductal invasivo (CDI) e o carcinoma lobular invasivo (CLI). O CDI é o tipo de carcinoma de mama mais frequente, representando entre 65 e 85% do total de casos. As células cancerígenas penetram a parede ductal e invadem o estroma mamário, podendo disseminar para outras partes do organismo através da corrente sanguínea ou do sistema linfático e invadir outros tecidos, como representado na figura 15. Pode apresentar-se como uma massa palpável, dura e irregular e é detectável mediante mamografia. Uma minoria substancial dos CDI exibe uma combinação de tipos histológicos.[127–129] O CLI tem origem nas glândulas mamárias ou lóbulos e estende-se ao tecido adiposo mamário. É relativamente pouco comum, sendo que aproximadamente 10% de todos os casos de cancro da mama infiltrativos são deste tipo. Pode apresentar-se como uma massa palpável, à semelhança do CDI, embora com tendência para apresentar contornos mais indefinidos.[127,128,132] Existem ainda formas mais raras de carcinomas invasivos como os que a seguir se referem.

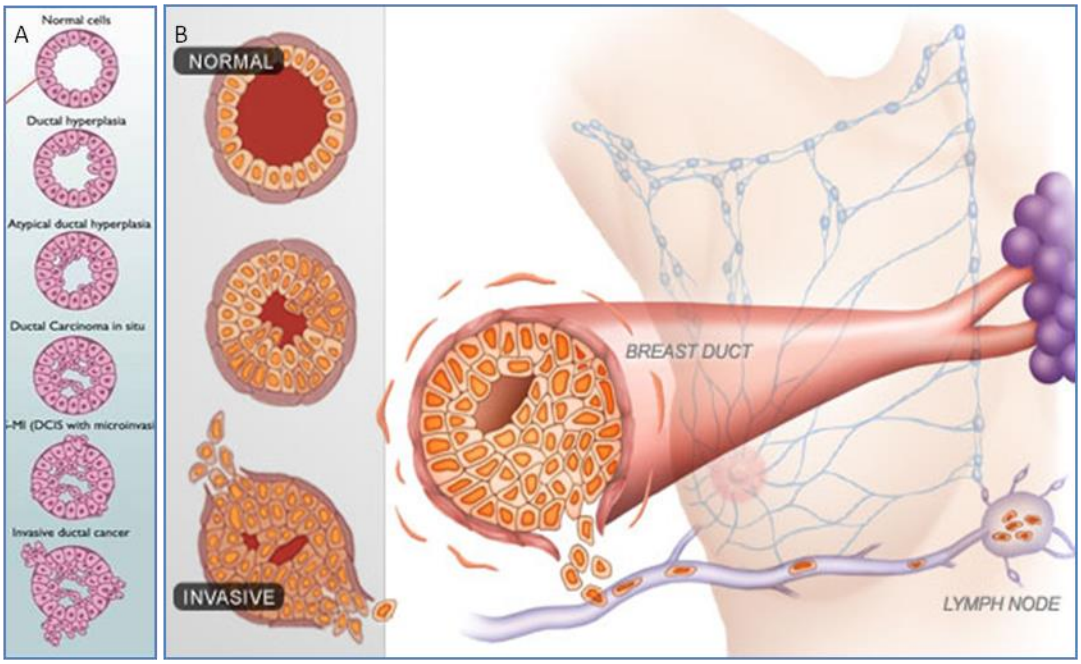


Figura 15. (A) Processos de evolução tumoral no epitélio mamário;[137] **(B)** Carcinogénese mamária.[138]

O carcinoma tubular é uma forma de carcinoma invasivo, altamente diferenciado, cujas células constituintes são regulares e dispostas em túbulos bem definidos. Na maioria dos casos apresenta-se como alteração mamográfica não palpável, normalmente uma massa e, ocasionalmente, associada a micro-calcificações. Apresenta uma taxa de incidência de 8-27% e, na sua forma pura, apresenta potencial metastático limitado.[127]

O carcinoma medular constitui uma forma pouco comum de carcinoma invasivo (entre 5-7% de todos os carcinomas invasivos). Histologicamente, estes tumores são caracterizados por células de tamanho médio superior ao normal, apresentando células do sistema imunitário na periferia e as suas lesões apresentam contornos bem definidos, podendo ser de grandes dimensões e macias à palpação. O prognóstico para estes tumores é relativamente favorável.[127]

O carcinoma mucinoso ou colóide é outra forma de cancro invasivo, caracterizada pela produção de grandes quantidades de muco extra-celular. Menos de 5% dos cancros invasivos apresentam componente mucinoso, ocorrendo normalmente em mulheres em período pós-menopausa. Mamograficamente, carcinomas puramente mucinosos podem mimetizar lesões benignas, de contornos bem circunscritos e margens micro-lobuladas.[127,129]

O carcinoma metaplásico (do tipo epidermóide, condróide, ósseo, de células fusiformes e do tipo misto) é outra forma de carcinoma invasivo, pouco comum, representando menos de 5% de todos os cancros da mama. As suas lesões apresentam vários tipos de células que não são tipicamente encontradas noutras formas de cancro da mama. A sua manifestação clínica é, muitas vezes, uma única lesão palpável, frequentemente associada a um rápido crescimento e, na

mamografia, estes tumores são moderadamente circunscritos, sob a forma de lesões não calcificadas que, em alguns casos, aparentam ser benignas.[127]

O carcinoma papilar invasivo ou papilífero é extremamente raro, compreendendo apenas 1-2% dos carcinomas invasivos da mama. Ocorre sobretudo em mulheres em idade pós-menopausa e é caracterizado por densidades nodulares, que podem ser múltiplas e que são frequentemente lobuladas.[127]

O carcinoma inflamatório é uma forma localmente avançada de cancro da mama, associada a um quadro de instalação súbita de características clínicas que incluem inflamação mamária, edema, eritema, calor, espessamento e ondulação da pele (pele do tipo "casca de laranja") e formação de uma aresta palpável na margem do endurecimento. Pode não existir uma massa palpável, mas existem frequentemente adenopatias axilares. A caracterização clínica inclui também ausência de sintomas sistémicos. Frequentemente confundidos com infecção, estes sintomas resultam do bloqueio dos vasos linfáticos dérmicos por células cancerígenas ou por êmbolos provenientes do tumor. Constitui cerca de 1-5% de todos os cancros da mama e apresenta um prognóstico pouco favorável, uma vez que o diagnóstico deste tipo de cancro é feito, normalmente, apenas em estádios avançados, como IV ou IIIb, mediante uma biópsia da pele. A sobrevivência a este carcinoma reduz-se para 25-50% aos 5 anos após o diagnóstico, devido à existência de uma invasão linfática precoce.[127,132]

A doença de Paget da mama representa 0,7-4% dos cancros da mama. É caracterizada por alteração unilateral do mamilo e/ou da aréola, que pode incluir vesículas aureolares recorrentes, eczema eritematoso crónico, lesões psoriáticas e até lesões erosivas. É frequente a ocorrência de prurido e hipersensibilidade. Geralmente, a lesão aparece na papila, estendendo-se à auréola e, raramente, à pele adjacente. Em praticamente todos os casos, é encontrada uma lesão maligna subjacente (carcinoma ductal em 65% dos casos e carcinoma ductal invasivo em 30%). Aproximadamente 50% das doentes com Paget da mama apresentam massa palpável e, as restantes, alterações mamográficas. O diagnóstico de Paget da mama é realizado por microscopia através da identificação de células grandes, claras com núcleos atípicos, denominadas células de Paget, concentradas na membrana basal da epiderme. A origem dessas células é controversa, sendo a teoria mais aceite a de que a célula migra de um tumor intra-parenquimatoso através dos ductos até ao epitélio papilar. Outra hipótese sugere o inverso: que a célula maligna tem origem na própria epiderme. O estadiamento depende do tamanho da lesão. Quando a lesão está restrita à papila, sem massa tumoral ou carcinoma invasivo associado, é classificada como Tis (classificação TNM).[139] O prognóstico e o tratamento dependem da presença ou não de lesão subjacente, sendo o prognóstico excelente quando associada ao carcinoma *in situ.*[127,132]

O carcinoma cribiforme invasivo, outra das formas de cancro invasivo propostas pela OMS, constitui uma forma de cancro bem diferenciada, composta por células pequenas e uniformes. Partilha algumas características com o carcinoma tubular, estando também associado

a um prognóstico relativamente favorável. Cerca de 5-6% dos carcinomas invasivos apresentam, pelo menos, uma componente parcial de carcinoma cribiforme.[127]

O carcinoma micro-papilar invasivo é uma variante distinta, mas pouco reconhecida, de cancro da mama que se apresenta normalmente como uma massa firme e imóvel. Os achados mamográficos são caracterizados, para este tipo de lesão, por nódulos espiculados, irregulares ou redondos, de elevada densidade, com ou sem associação de micro-calcificações. Formas puras de carcinoma micro-papilar são pouco comuns, com uma incidência inferior a 3%.[127,132]

Podem ainda considerar-se outras formas de carcinoma invasivo, segundo classificação da OMS: carcinoma ductal invasivo com componente intra-ductal predominante, carcinoma adenocístico, carcinoma secretor (juvenil), carcinoma apócrino e outros tipos como carcinoma rico em lípidos, carcinoma de pequenas células, carcinoma de células em anel de sinete e carcinoma inflamatório.

Outras formas de cancro da mama são os já referidos tumores mistos epiteliais e mesenquimais, categoria na qual se inserem o tumor filóide maligno e o carcinossarcoma. O tumor filóide é uma neoplasia composta por elementos epiteliais e mesenquimais de comportamento bastante variável. Não é muito frequente, representando 2-3% dos tumores fibroepiteliais. Apresenta maior frequência entre os 30 e 40 anos de idade e, macroscopicamente, apresenta-se como um tumor arredondado, bem circunscrito e firme, com diâmetros que variam de cerca de 5 a 20 cm. Ao corte, pode apresentar-se acinzentado ou esbranquiçado, com áreas sólidas e degeneração cística, podendo haver necrose e hemorragia. Microscopicamente, apresenta hipercelularidade ao nível do estroma e elementos glandulares benignos.[139] A aparência grosseira destes tumores não é facilmente distinta da dos fibroadenomas, sendo a quantidade e a aparência do estroma, determinantes na distinção entre fibroadenoma ou tumor filóide. Estes tumores são difásicos e compostos por elementos epiteliais benignos e por células do estroma do tecido conjuntivo.[127]

A classificação da OMS de 2003 distingue ainda tumores malignos diversos que incluem: tumores dos tecidos moles (sarcoma do estroma e angiossarcoma), tumores de tecidos hematopoiéticos e linfóides (linfomas malignos e plasmocitoma (mieloma)) e tumores cutâneos malignos (carcinoma epidermóide, melanoma maligno, etc.).

3.4.2 Classificação Molecular

Estudos do perfil molecular do carcinoma da mama do início da década de 2000 permitiram a divisão do carcinoma da mama em vários subtipos tumorais, da qual resultou a classificação molecular do cancro da mama que correlaciona esses subtipos com parâmetros clínicos relevantes, como o tempo de sobrevivência e o tempo livre de doença.[140–148] Assim,

Charles Perou e colaboradores distinguiram grupos de tumores correspondentes a diferentes características moleculares, baseadas na biologia celular do epitélio mamário. Os subtipos tumorais definidos distinguem-se entre si pelos seus padrões de expressão génica, alguns dos quais se encontram identificados na figura 16, pela resposta distinta a diferentes terapêuticas e por apresentarem prognósticos diferentes. Foram divididos em cinco grupos, de acordo com marcadores imunohistoquímicos (IHC, do inglês, *immunohistochemical*) como ER (receptores de estrogénio ou, do inglês, *Estrogen Receptor*), PR (receptores de progesterona ou, do inglês, *Progesterone Receptor*), HER1, HER2 (do inglês, *Human Epidermal Growth Factor Receptors 1 and 2* (genes 1 e 2)) e citoqueratinas 5, 6, 14 e 17 (CK 5/6/14/17/18/19):[140–143]

- **Luminal A** – apresentam fenótipo ER+ e/ou PR+, HER2-. Foram caracterizados pela elevada expressão de genes representados pelas células epiteliais luminais (como as citoqueratinas 7, 8, 18 e 19). Este fenótipo encontra-se associado a um prognóstico favorável, respondendo à terapêutica endócrina com anti-estrogénios, como tamoxifeno e inibidores da aromatase.[148] Este grupo representa cerca de 70% de todos os carcinomas da mama.[75,149]

- **Luminal B** – apresentam fenótipo ER+ e/ou PR+, HER2+. Este grupo foi caracterizado por baixa ou moderada expressão de genes expressos pelas células epiteliais luminais. Está associado a pior prognóstico, particularmente relacionado com a recidiva tumoral, por apresentar algumas semelhanças com os tumores ER-.[147,149,150]

- **Sobrexpressão do HER2** – apresentam fenótipo ER-, PR-, HER2+. Caracterizados pela sobrexpressão do HER2, molécula da família dos receptores de factores de crescimento epidérmicos que resulta da amplificação do oncogene HER2, estes tumores apresentam ainda baixos níveis de expressão de vários genes dos tumores do tipo basal.[75,149,151,152] Apresentam, também, respostas favoráveis aos fármacos que bloqueiam ou inibem a actividade do HER2, como o anticorpo monoclonal trastuzumab. Estão, no entanto, associados a tempos de sobrevivência curtos, apesar da existência de terapêuticas dirigidas.[153] Representam cerca de 15-30% dos cancros da mama.[153–155]

- **Basal** – este subtipo tumoral apresenta fenótipo do tipo ER-, PR-, HER-2-, HER-1+, CK 5/6/14/17+, EGFR+, P-caderina+ e P53+ (proteína 53) e representa cerca de 2-18% dos carcinomas invasivos da mama. Foi caracterizado pela expressão de um grupo de genes característicos das células basais/mioepiteliais. Este grupo de genes, relacionado com a regulação do ciclo celular, invasão, metastização e angiogénese, como os genes que codificam a CK14, a integrina 4, a laminina e a P-caderina, estão associados a tumores

da mama mais agressivos.[141,142,156,157] Este perfil está também ligado a mutações génicas no BRCA1 e constitui o subtipo tumoral com pior prognóstico, não apresentando alvo terapêutico definido. Não responde a tratamentos com anti-estrogénios ou com anticorpo monoclonal trastuzumab. Aproximadamente 70% dos tumores mamários ditos triplos-negativos (TNBC ou, do inglês, *Triple Negative Breast Cancer*) são *basal-like*, o que torna a tripla negatividade frequente substituta na caracterização deste subtipo tumoral.[75,145,146,150–152]

- **Normal *Breast-Like*** – apresenta um fenótipo negativo para todos os marcadores IHC referidos anteriormente. Apresenta aumento da expressão de muitos genes conhecidos por serem expressos pelo tecido adiposo e por outros tipos de células não epiteliais (perfil de expressão génica semelhante ao do tecido mamário normal), mostrando forte expressão para genes basais/mioepiteliais e baixa expressão para genes do epitélio luminal. Não é, ainda, clara, a distinção deste subtipo nem o seu valor clínico.[75,141,150]

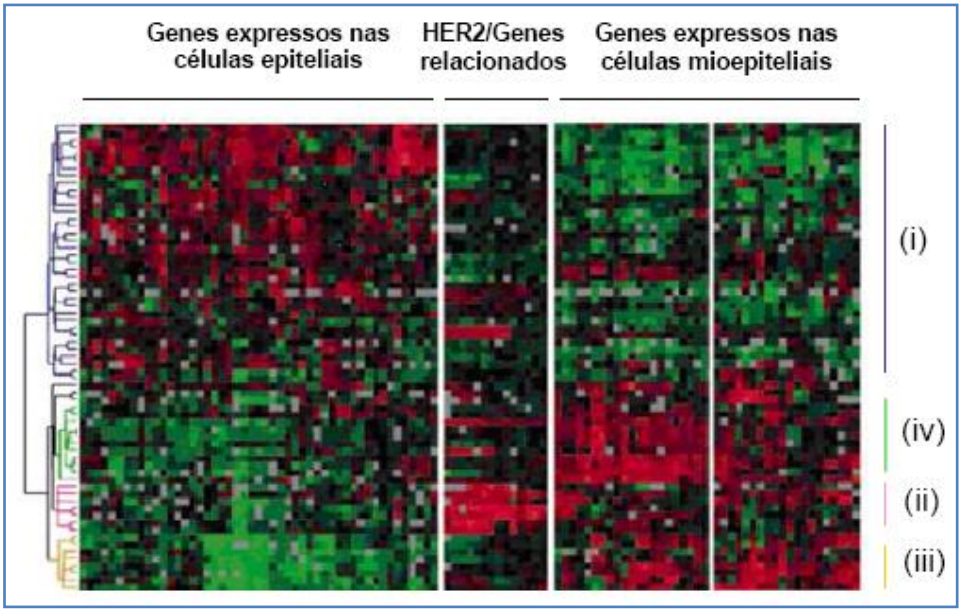


Figura 16. Perfis de expressão génica do cancro da mama. Identificação de 4 subtipos moleculares distintos: (i) ER+/luminal; (ii) HER2+/ER-; (iii) ER-/basal; (iv) tumores *normal-like*.[141]

A classificação histológica actual e o sistema existente de estadiamento do cancro da mama não são ideais. Doentes com tipos de tumores e estádios da doença semelhantes apresentam, frequentemente, diferentes prognósticos e respostas à terapêutica.[142,144] Variações

nos programas de transcrição contribuem para muita da diversidade biológica das células tumorais.[141,142,144,158] A determinação do perfil molecular pode predizer o comportamento biológico e o padrão de disseminação de tumores individuais, evitando carência de tratamentos adequados ou aplicação de terapêutica desnecessária (sobre-terapêutica) tanto loco/regional como sistémica.[159–161] Assim, carcinomas da mama clinicamente designados de ER-, basais e HER2+, devem ser tratados como doenças distintas.[141,147]

3.5 Biologia Tumoral – Factores Prognósticos e Predictivos

O cancro da mama caracteriza-se por grande heterogeneidade. A sua evolução depende, aparentemente, de uma interacção muito particular entre o tumor e o organismo doente. No final do século XIX, *Halsted* popularizou a mastectomia radical, com base na crença de que o cancro da mama progredia de um modo organizado, inicialmente através dos vasos linfáticos locais e pela pele e, numa fase mais avançada, por via hematógena para outros órgãos. Contudo, e infelizmente, apenas 12% das doentes tratadas através dessa abordagem terapêutica radical sobreviviam após 10 anos. Por outro lado, é sabido que casos em que não é realizado qualquer procedimento com vista ao tratamento, cerca de 18% das doentes apresentam sobrevivência de 5 anos. O fraco resultado associado à abordagem *Halstediana*, bem como a observação de que 20-30% dos doentes sem doença ganglionar acabavam por desenvolver doença metastática, conduziu à proposição do paradigma micrometastático. Este modelo assenta no conceito de que muitos dos doentes com cancro da mama detectado em estádios precoces da doença, apresentam doença micrometastática à distância, presente na altura do diagnóstico, colocando-as em risco de desenvolvimento e posterior manifestação de doença metastática.[159,160] O objectivo da terapêutica sistémica adjuvante é erradicar estes depósitos micrometastáticos distantes. É, portanto, fundamental, a capacidade de estabelecer uma estimativa do risco individual de presença de doença micrometastática, clinicamente silenciosa, utilizando factores prognósticos bem estabelecidos. É, também, benéfica a capacidade de seleccionar uma óptima terapêutica adjuvante, adequada individualmente a cada doente, com base em factores predictivos, também pré-estabelecidos. Neste sentido, a heterogeneidade biológica, a crescente incidência e a elevada taxa de mortalidade do cancro da mama, justificam as tentativas de se identificarem elementos que permitam melhorar a compreensão do comportamento biológico e, consequentemente, elementos que permitam identificar os doentes com risco de recidiva e metastização à distância (factores prognósticos), bem como seleccionar os potencialmente susceptíveis a terapêuticas específicas (factores predictivos). De outro modo, os factores prognósticos são todos os dados disponíveis por altura da cirurgia, que se correlacionem com o tempo livre de doença e o tempo de sobrevivência global, na ausência de terapêutica sistémica adjuvante e que, como resultado,

permitem uma correlação com a história natural da doença, de acordo com o esquema da figura 17. Em contraste, um factor preditivo é qualquer medida associada à resposta a uma dada terapêutica. Alguns factores, como a expressão de receptores hormonais ou a sobrexpressão de HER2/*neu* são tanto prognósticos como predictivos.[159] A importância da determinação dos factores prognósticos e predictivos da doença prende-se com a necessidade de identificar doentes com factores prognósticos favoráveis, a quem a terapêutica adjuvante não trará benefícios que se sobreponham aos respectivos riscos associados, identificar doentes cujo prognóstico seja suficientemente pobre para justificar uma terapêutica mais agressiva e seleccionar doentes cujos tumores sejam mais ou menos susceptíveis de beneficiar de diferentes formas de terapêutica.[162]

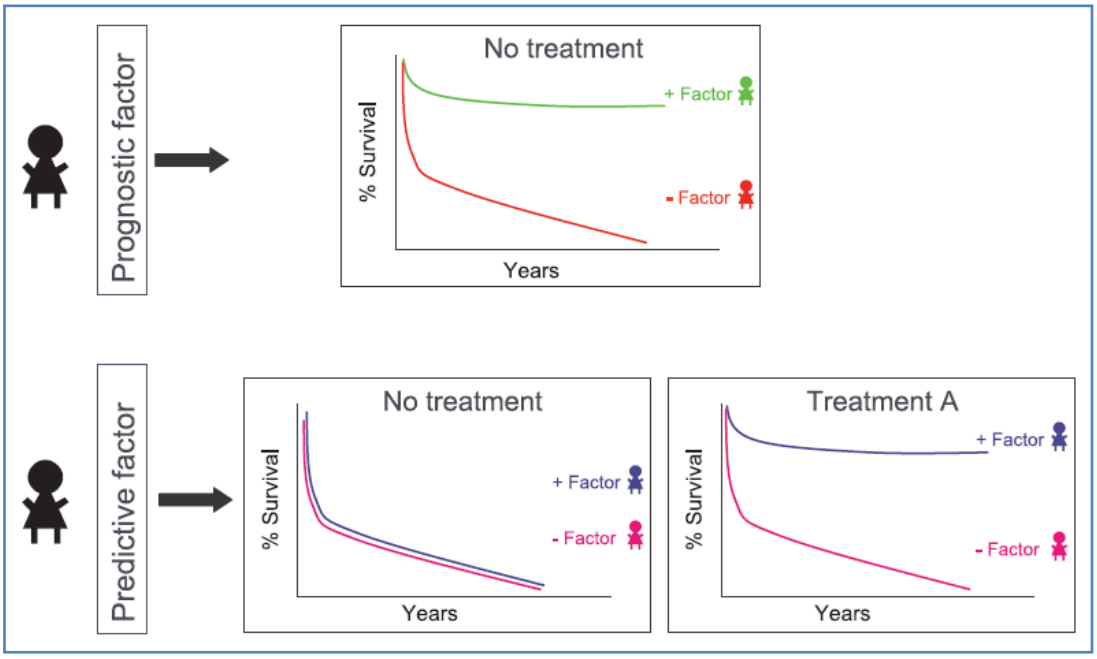


Figura 17. Factores prognósticos e predictivos. Um factor prognóstico prevê a evolução natural da doença. Pode, por exemplo, prever o desenlace de doentes com cancro da mama que tenham recebido terapêutica local, mas não sistémica. Desse modo, determina se um doente deve ou não ser tratado, mas não como. Um factor preditivo prevê a evolução da doença após terapêutica específica, mas não na ausência dessa mesma terapêutica. Determina, como tal, a forma como o doente deve ser tratado, mas não se o doente deve ou não ser tratado.[163]

3.5.1 Factores Prognósticos

I. Condição Ganglionar Axilar

A drenagem linfática mamária é feita sobretudo por três vias: axilar, transpeitoral e mamária interna, que incluem quatro cadeias ganglionares linfáticas regionais esquematizadas na figura 18. A cadeia axilar (ipsilateral) compreende os gânglios interpeitorais (de *Rotter*) e os gânglios linfáticos localizados ao longo da veia axilar e suas tributárias, que podem ser divididas em 3 níveis: nível I (axilar inferior), nível II (axilar medial) e nível III (axilar apical). A cadeia mamária interna (ipsilateral) engloba os gânglios linfáticos localizados nos espaços intercostais ao longo do bordo esternal na fáscia endotorácica. A cadeia supra-clavicular abrange os gânglios linfáticos na fossa supra-clavicular. Os gânglios linfáticos adjacentes exteriores ao triângulo são considerados gânglios cervicais inferiores (M1[1]). A cadeia intra-mamária congloba os gânglios linfáticos presentes no tecido mamário, sendo, também, designados gânglios linfáticos axilares para efeitos de estadiamento (classificação N[1]). Os gânglios linfáticos supra-claviculares são classificados como gânglios linfáticos regionais pelos mesmos motivos.[86]

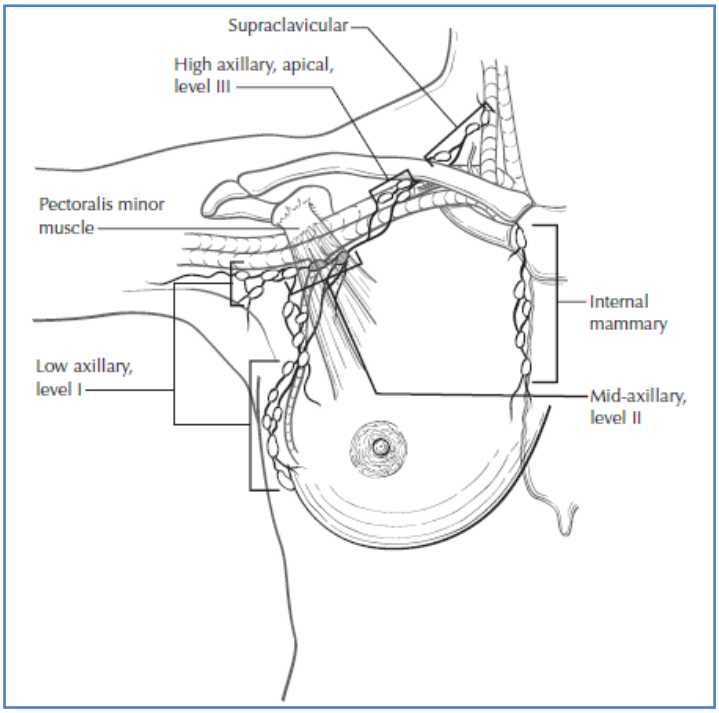


Figura 18. Cadeias de drenagem linfática regional mamária.[86]

[1] Refere-se à classificação TNM utilizada no estadiamento do cancro da mama que será abordada mais à frente neste capítulo.

O factor prognóstico de maior impacto para doentes com cancro da mama em estádio precoce é a ausência/presença de envolvimento ganglionar axilar, existindo também uma relação directa entre o número de gânglios envolvidos e o risco de metastização. No intuito de simplificar, contudo, a maioria dos ensaios clínicos estratifica os doentes em quatro grupos, com base em dados da NSABP (do inglês, *National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project*): gânglios negativos, 1-3 gânglios positivos, 4-9 gânglios positivos e 10 ou mais gânglios positivos. As taxas de sobrevivência aos 5 anos são, respectivamente para cada grupo, de 82,8%, 73%, 45,7% e 28,4% para mais de 13 gânglios invadidos.[164–167] O risco de recorrência é, também, significativamente elevado (pelo menos 20% de probabilidade de doença recorrente à distância no futuro) quando há evidência de invasão ganglionar que justifique a determinação de terapêutica sistémica adjuvante. Para doentes de baixo risco, deve ser efectuada uma avaliação individual, com base noutros factores prognósticos.[159] A presença de metastização em qualquer localização ganglionar linfática externa à descrita acima, incluindo cervical ou mamária interna contra-lateral, ou linfática axilar também contra-lateral, é classificada como metastização à distância ($M1^{1}$).[86]

Normalmente, o estado ganglionar axilar é determinado por biópsia após dissecção padronizada do gânglio sentinela, localizado através do uso combinado de colóides radiomarcados em cintigrafia para pesquisa de gânglio sentinela e corante azul de metileno durante a cirurgia. No entanto, estudos retrospectivos recentes demonstraram a existência de risco elevado de recorrência e morte associada ao cancro da mama em mulheres com metástases ocultas ou com depósitos tumorais micrometastáticos nos seus gânglios axilares.[168] Assim, é desaconselhada a decisão terapêutica com base apenas na negatividade/positividade do gânglio sentinela determinada por IHC, sendo necessária a ponderação de outros factores como tamanho do tumor, grau de diferenciação tumoral, expressão dos receptores hormonais e idade.[159]

II. Tamanho do Tumor

O tamanho do tumor constitui um factor prognóstico independente de elevado impacto, sendo que, quanto maior o tamanho do tumor, maior a probabilidade de surgirem clones com capacidade metastática e, consequentemente, pior o prognóstico. A probabilidade de recidiva e o tempo de intervalo entre o diagnóstico inicial e a recidiva da doença, aumentam igualmente com o aumento do tamanho dos tumores.[169] Tumores com o maior eixo superior a 3cm apresentam uma taxa de recidiva elevada e requerem terapêutica adjuvante.[84,159,170] O tamanho do tumor correlaciona-se, também, com a presença e o número de gânglios linfáticos axilares envolvidos. Em doentes sem evidência de doença ganglionar axilar, o tamanho do tumor constitui o factor

prognóstico mais robusto, sendo utilizado por rotina na determinação da terapêutica adjuvante mais adequada.[159,171,172]

III. Grau de Diferenciação e Tipo Histológico do Tumor

As características patológicas intrínsecas ao tumor têm, naturalmente, valor prognóstico significativo. Tal como foi anteriormente referido, certos tipos tumorais como carcinoma tubular, mucinoso ou medular, apresentam prognóstico mais favorável do que qualquer cancro da mama inespecífico.[173–176] O sistema de classificação baseado no grau de diferenciação tumoral mais amplamente aceite é o sistema de *Scarff-Bloom-Richardson* (SBR ou grau de diferenciação de *Bloom*).[177] Este sistema baseia-se na soma dos índices atribuídos por escala de 1 a 3 pontos, do índice mitótico, arquitectura tubular ou diferenciação e do pleomorfismo nuclear. Tumores com pontuações de 3 a 5 são bem diferenciados ou grau I e apresentam células bem diferenciadas, ordenadas e com poucas ou nenhumas mitoses visíveis; pontuações de 6 e 7 identificam tumores moderadamente diferenciados ou grau II; classificações de 8 e 9 referem-se a tumores pouco diferenciados ou grau III, caracterizados, portanto, por células pouco diferenciadas (anaplásicas), pleomórficas e com muitas mitoses visíveis. Deste modo, um baixo grau tumoral indica um tumor de crescimento lento, com baixa tendência de invasão e metastização e, como tal, associado a um bom prognóstico, que é bem menos optimista para os tumores de grau III. Um grau histológico superior corresponde a um pior prognóstico. Estudos realizados num elevado número de doentes indicam a existência de uma razão de 4,4, quando comparados tumores de grau III de diferenciação de *Bloom* e tumores de grau I.[178] O grau de diferenciação tumoral apresenta significância prognóstica, sendo usado sobretudo na decisão terapêutica de doentes sem envolvimento ganglionar axilar, mas com tamanhos tumorais limítrofes e tem uma correlação significativa com o tempo de sobrevivência e com o tempo livre de doença.[159,172]

IV. Invasão Linfática, Vascular e Peri-Neural

A invasão peri-tumoral dos vasos linfáticos e a invasão vascular demonstraram significância prognóstica para o risco de recorrência da doença, local ou à distância e são sobretudo utilizadas na decisão terapêutica de doentes sem invasão do gânglio sentinela e com tumores de dimensões limítrofes. Estudos efectuados revelaram a existência de correlação entre a invasão linfática e vascular e o risco de recorrência ou de morte.[179] A taxa de recorrência em doentes com invasão linfática e/ou vascular e estádio I é de 38%, relativamente a 22% de taxa de recorrência quando não existe invasão linfática e/ou vascular. Independente da aplicação ou não

de terapêutica sistémica adjuvante, a presença de invasão linfática e/ou vascular é também associada a um aumento de 15% do risco de recorrência a 5 anos.[180]

A invasão neoplásica peri-neural foi, por sua vez, definida pelo envolvimento de ninhos de células tumorais no espaço peri-neural, tendo sido associada ao aumento da recorrência local e metastização regional.[181,182] No sistema nervoso periférico, as fibras nervosas são agrupadas em feixes que originam os nervos. Estes, apresentam uma coloração esbranquiçada por causa do seu conteúdo de mielina e colagéneo, sendo morfologicamente estruturado por um tecido de sustentação constituído por uma camada fibrosa mais externa de tecido conjuntivo denso (epineuro), que reveste o nervo e preenche os espaços entre os feixes de fibras nervosas, os quais são individualmente revestidos pelo perineuro, isto é, uma bainha de várias camadas de células achatadas, justapostas que servem como barreira à passagem de macromoléculas e mecanismo de defesa. Os axónios são encontrados no interior da bainha de mielina, formada por células de Schwann, com uma lâmina basal e um revestimento conjuntivo constituído principalmente por fibras reticulares sintetizadas pelas células de Schwann, chamado endoneuro.[183,184] Apesar de ainda não ser completamente compreendido, o mecanismo de invasão peri-neural correlaciona-se com elevadas taxas de recorrência, comportamento agressivo e baixa sobrevivência.[181] O espaço perineural fornece um microambiente adequado para o crescimento de células provenientes de doenças malignas neurotrópicas, provavelmente devido a factores celulares e seus respectivos receptores que atraem as células cancerígenas e estimulam o seu crescimento ao longo dos nervos, podendo tornar-se intimamente associadas às células de Schwann e aos axónios no endoneuro.[185] Um tumor que ganha capacidade de invadir o perineuro encontra um trajeto de baixa resistência relativamente protegido das defesas do hospedeiro, o que facilita a difusão das células tumorais ao longo do nervo, podendo atingir diversas regiões do organismo. A invasão perineural é um processo lento e pode, assim, ser considerada uma forma de difusão metastática do tumor.

V. Marcadores de Proliferação

O índice proliferativo constitui, também, um factor com significância prognóstica, correlacionando-se com a taxa de sobrevivência e o tempo livre de doença.[186,187] Os marcadores de proliferação incluem a fracção de fase-S (SPF), o índice de marcação da timidina, o índice mitótico e análises por IHC, utilizando anticorpos anti antigénios de proliferação como o KI-67 e o antigénio nuclear de células em proliferação.[188–190] Vários estudos demonstraram a existência de uma associação entre a SPF e o prognóstico, com uma razão de 1,29 relativamente ao risco relativo de morte.[191] Para além disso, tumores com SPF elevada estão associados a um elevado risco de recorrência e morte, quando comparados com tumores com baixa SPF.[159,192] Deste modo, a SPF elevada é utilizada, em primeiro lugar, como justificação para a administração de

terapêutica adjuvante em doentes sem invasão dos gânglios linfáticos e com tumores de dimensões limites. Por outro lado, a SPF baixa pode ser utilizada para identificar um grupo de doentes sem invasão ganglionar que possam não necessitar de terapêutica adjuvante.[159]

VI. Etnia e Idade do Doente por Altura do Diagnóstico

Mulheres afro-americanas e hispânicas apresentam menores taxas de sobrevivência do que mulheres caucasianas. A origem desta disparidade é, provavelmente, multifactorial, incluindo condições como o relativamente baixo acesso a cuidados de saúde, resultando em estadiamentos mais elevados por altura do diagnóstico. Alguns dados, contudo, indicam que mesmo comparando estádios equivalentes, a sobrevivência pode ser inferior nas mulheres afro-americanas.[193–195] Relativamente à idade, mulheres com idade inferior a 35 anos apresentam normalmente pior prognóstico. Deste modo, etnia e idade podem ser usadas para identificar grupos de doentes com maior risco de recorrência devendo, contudo, ser utilizadas em conjunto com outros factores prognósticos.[88,159,196]

3.5.2 Factores Prognósticos e Predictivos

I. Receptores Hormonais

Os receptores de estrogénio e de progesterona, para além de poderem constituir indicadores da diferenciação dos tumores e, portanto, fornecerem indicação prognóstica da doença, constituem também um importante factor preditivo do cancro da mama. Os tumores hormonodependentes, positivos para os dois receptores, representam cerca de 80% do total de tumores da mama e estão associados a uma lenta progressão, boa diferenciação e melhor prognóstico, com tempo livre de doença e sobrevivência total, superiores às registadas para tumores negativos para receptores hormonais. [197–199] Contudo, alguns autores consideram que a significância prognóstica dos receptores hormonais não perdura a longo prazo, o que poderá ser indicativo de que a presença dos mesmos apenas possa prever que estes tumores são mais indolentes, de crescimento mais lento e com maiores intervalos até à recorrência de doença.[200] Relativamente ao seu valor preditivo, os receptores hormonais constituem uma ferramenta valiosa na avaliação de tumores que poderão beneficiar de tamoxifeno adjuvante, sendo que estudos efectuados revelaram não existir qualquer benefício no tratamento de tumores que não expressem

receptores hormonais com este fármaco.[159,201] Mais recentemente, foi demonstrado ainda que casos ER-positivos/PR-positivos respondem melhor ao tamoxifeno, especialmente em recidivas, enquanto casos ER-positivos/PR-negativos desenvolvem mais facilmente resistência a este anti-estrogénio.[167] Cerca de 70-80% dos tumores que expressam receptores hormonais, respondem ao tratamento com anti-estrogénios.

II. HER2/*neu*

A oncoproteína c-erbB-2 (HER2/*neu*) é um proto-oncogene localizado no cromossoma 17 (17q21) que codifica uma glicoproteína transmembranar, $p185^{HER2}$, de 185kDa, com actividade intrínseca da tirosina quinase homóloga ao EGFR, ou seja, com funções de receptor de crescimento, estando envolvida na diferenciação, adesão e mobilidade celulares.[202] Existem várias designações e grafias distintas para este marcador: c-erB-2; cerB-2; C-erB-2; HER-2; HER-2/neu; ERBB2; erbB2; erbB-2; neu/c-erbB-2; oncogene neu; proteína neu; neu; etc. Encontra-se sobrexpresso ou amplificado em cerca de 25 a 30% dos tumores humanos da mama (40-60% dos carcinomas ductais *in situ* e 15-30% dos carcinomas invasivos).[138,159] A sobrexpressão de HER2 está associada ao aumento do grau de agressividade tumoral, a elevadas taxas de recorrência e a mortalidade aumentada entre doentes com gânglio positivo, sendo que a influência sobre tumores com gânglios negativos é mais variável e se correlaciona com a resistência à terapêutica com anti-estrogénios e à quimioterapia. Assim, a expressão desta oncoproteína correlaciona-se com progressão tumoral e evolução desfavorável da doença.[203–205] Existe, actualmente, uma terapêutica dirigida aos tumores que sobrexpressam HER2 e que consiste num anticorpo monoclonal humanizado (trastuzumab), que se liga à porção extracelular do receptor, bloqueando a proliferação celular e induzindo a apoptose das células tumorais.[138,198,206] A amplificação do HER2/*neu* constitui, assim, um factor prognóstico na medida em que se relaciona com tumores mais agressivos. Os dados que suportam a utilização do HER2/*neu* na selecção da terapêutica adjuvante são, contudo, limitados pelos vários métodos de avaliação da sua sobrexpressão. A aplicação ideal da sobrexpressão do HER2 pode ser como factor preditivo, especialmente na predição da resposta ao trastuzumab no panorama metastático, sendo que a sua utilização por rotina na decisão que equaciona várias formas de quimioterapia e regimes de terapêutica adjuvante é, ainda, precoce.[159]

III. Perfil de Expressão Génica

Um perfil de expressão génica pode conter informação prognóstica e preditiva útil, estabelecendo prognósticos mais ou menos favoráveis entre grupos de doentes e prevendo a resposta à terapêutica.[159,207]

3.6 Estadiamento Tumoral

Os objectivos da classificação tumoral de qualquer tipo de cancro, em particular do cancro da mama, passam por facilitar o prognóstico e permitir que a selecção adequada do tratamento diferencial o torne mais eficaz. De forma a facilitar este processo, o clínico deve basear a sua avaliação tanto na informação clínica como na anatomia patológica. O sistema mais usado para classificação e descrição de tumores malignos é o sistema TNM (T-tumor, N-gânglios (do inglês ***n****odes*) linfáticos regionais, M-metástases), desenvolvido por *Pierre Denoix*, na França, entre 1943 e 1952 e publicado pela UICC (União Internacional Contra o Cancro). O sistema tornou-se útil e conhecido quando foi possível concluir, através da prática clínica, que o cancro localizado tinha maior probabilidade de ser tratado eficazmente do que o disseminado para além do órgão de origem. Relativamente ao cancro da mama, este método de classificação apenas se aplica às neoplasias malignas epiteliais (carcinomas) mamárias e requer sempre uma classificação histológica. O local da lesão deve ser mencionado, não sendo, no entanto, considerado para efeitos de classificação. No caso de tumores primários múltiplos simultâneos na mesma mama, o estadiamento deverá ser feito utilizando o maior T. Tumores mamários bilaterais devem ser classificados independentemente.[86] A classificação pT é a medida da dimensão da componente infiltrativa do tumor.

O sistema TNM de classificação do cancro de mama divide a doença de acordo com a sua extensão. Essa divisão encontra-se representada na tabela 2.

Tabela 2. Classificação TNM para o Cancro da Mama[86]

1. Tumor Primário (T)

Tx	Não é possível aceder ao tumor primário;
T0	Sem evidência de tumor primário;
Tis	Tumor *in situ* (carcinoma intra-ductal ou lobular) ou doença de Paget do mamilo;
T1	Tumor de até 2 cm (dimensão do maior eixo);

T1mic	Micro-invasão de 0,1cm ou menos;
T1a	Tumor com mais de 0,1cm de dimensão do maior eixo, mas não mais de 0,5cm;
T1b	Tumor com mais de 0,5cm de dimensão do maior eixo, mas não mais de 1cm;
T1c	Tumor com mais de 1cm de dimensão do maior eixo, mas não mais de 2cm;
T2	Tumor com mais de 2 cm e não mais de 5 cm de dimensão do maior eixo;
T3	Tumor com mais de 5 cm de dimensão do maior eixo;
T4	Tumor de qualquer dimensão com extensão à parede torácica, ou à pele;
T4a	Extensão à parede torácica, não incluindo o músculo peitoral;
T4b	Formação de edema (pele tipo "casca de laranja") ou ulceração da pele, inflamação e/ou presença de gânglios satélites confinados ao lado do tumor;
T4c	Ambos T4a e T4b;
T4d	Carcinoma inflamatório;

2. Gânglios Linfáticos Regionais (N)

Nx	Impossibilidade de acesso aos gânglios regionais;
N0	Ausência de metástases ganglionares;
N1	Metástases em gânglios axilares móveis, nos níveis I e II ipsilaterais;
N2	Metástases em gânglios axilares fixos e opacos, nos níveis I e II ipsilaterais ou em gânglios da mamária interna detectados clinicamente, na ausência de evidência clínica de metastização nos gânglios axilares;
N2a	Metástases em gânglios axilares nos níveis I e II ipsilaterais, unidos um ao outro (emaranhados) ou a outras estruturas;
N2b	Metástases apenas em gânglios mamários internos detectados clinicamente e na ausência de evidência clínica de metastização nos gânglios axilares ipsilaterais dos níveis I e II;
N3	Metástases nos gânglios infra-claviculares ipsilaterais (nível III axilar), com ou sem envolvimento dos gânglios axilares dos níveis I e II; ou nos gânglios da cadeia mamária interna ipsilateral, com evidência clínica de metástases ganglionares axilares dos níveis I e II; ou metastização de gânglios supra-claviculares ipsilaterais, com ou sem envolvimento ganglionar axilar ou mamário interno;
N3a	Metastização nos gânglios linfáticos infra-claviculares ipsilaterais;
N3b	Metástases nos gânglios intra-mamários e em gânglios axilares;

N3c	Metastização nos gânglios supra-claviculares ipsilaterais.

3. Metástases à Distância (M)

Mx	Impossibilidade de avaliação de presença/ausência de metastização.
M0	Ausência de metástases à distância;
M1	Presença de metástases (incluindo metástases na cadeia ganglionar linfática supra-clavicular ipsilateral).

O *American College of Radiology* (ACR) desenvolveu um método de classificação do cancro da mama baseado nas diversas combinações permitidas pelo sistema TNM, que divide a doença em estádios, de acordo com a tabela 3 e representados na figura 19.

Tabela 3. Estadiamento Anatómico do Cancro da Mama – Divisão em Grupos Prognósticos[86]

Estadio 0	Corresponde ao Carcinoma *ductal in Situ*.		
	Tis	N0	M0
Estadio I	Quando o tumor tem até 2 cm, sem qualquer evidência de se ter espalhado pelos gânglios linfáticos próximos.		
	T1	N0	M0
Estadio II	Inclui tumores de até 5 cm, mas com envolvimento de gânglios linfáticos ou então, um tumor primário com mais de 5cm, sem metástases.		
IIa	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
IIb	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Estadio III	Quando o tumor tem mais de 5 cm e há envolvimento dos gânglios linfáticos da axila do lado da mama afectada.		
IIIa	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
IIIb	T4	Qualquer N	M0
	Qualquer T	N3	M0
Estadio IV	Quando existem metástases distantes, como no fígado, ossos, pulmão, pele ou outras partes do corpo.		
	Qualquer T	Qualquer N	M1

SÍMBOLOS ADICIONAIS:

a – Prefixo que determina que a classificação foi feita através de autópsia;

m – Sufixo, entre parêntesis, tumores primários múltiplos de um mesmo local anatómico;

y – Prefixo que antecede a classificação clínica ou patológica para casos em que o estadiamento é feito na vigência ou após terapêutica multimodal. Esta categoria não considera o estado do tumor antes do tratamento;

r – Prefixo utilizado para identificar tumor recorrente, quando classificado após intervalo livre de doença.

c – Prefixo indicativo de classificação clínica, determinada antes da cirurgia ou de terapêutica adjuvante;

p – Prefixo indicativo de classificação patológica que inclui informação definida na cirurgia.

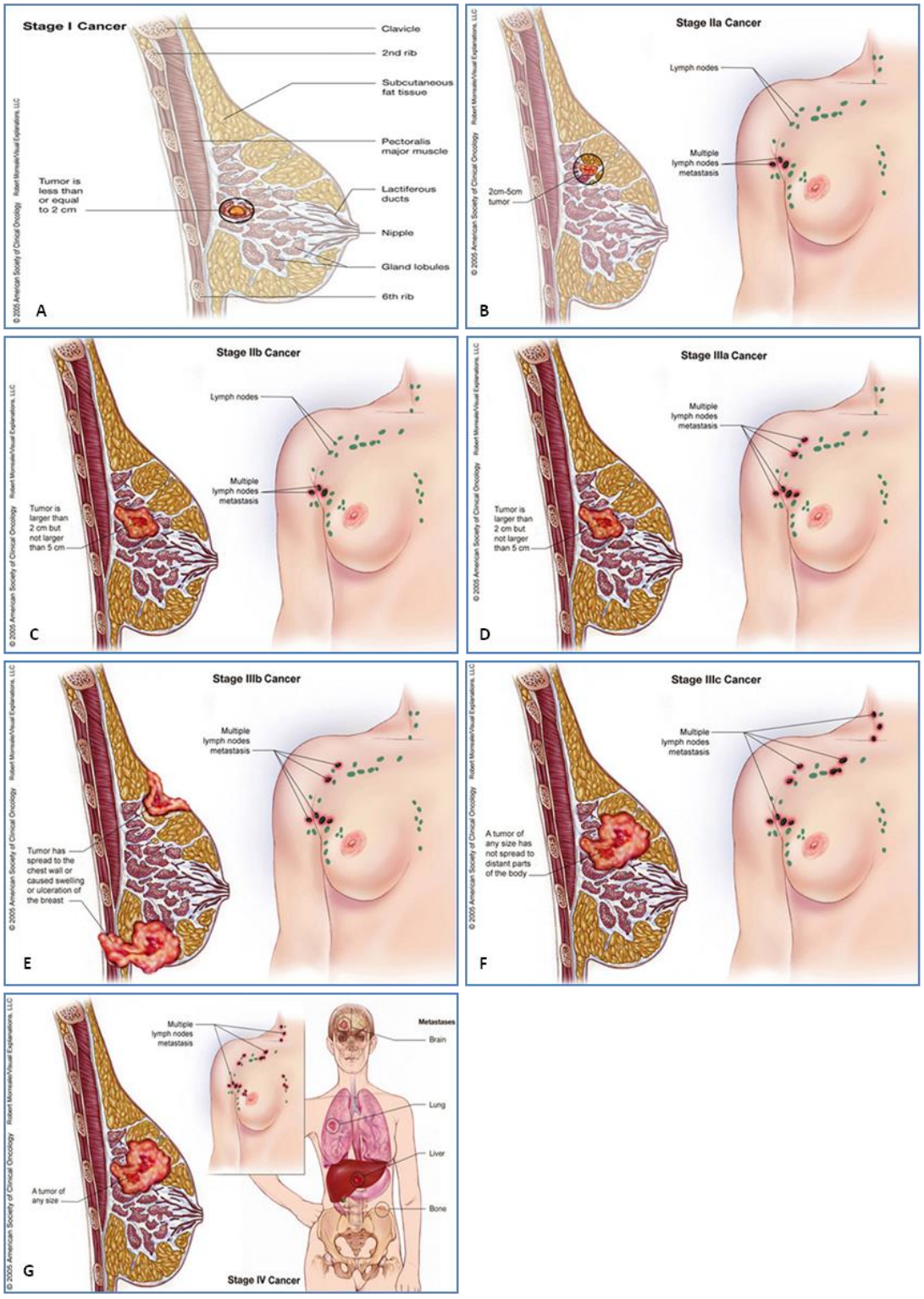


Figura 19. Estadiamento anatómico do cancro da mama.[208]

As células tumorais podem disseminar quer através do sistema linfático, quer pelo sistema sanguíneo. Os quatro locais "preferenciais" de metastização são osso, pulmão, cérebro e fígado e o processo pelo qual ocorre a disseminação para estes (e outros) órgãos do corpo é designado de "cascata metastática", processo que se encontra representado na figura 20. No entanto, as células

tumorais são capazes de migrar para muitas outras localizações. Micrometástases na medula óssea, células tumorais circulantes e focos de metastização com dimensões inferiores a 0,2 mm, são designadas de células tumorais microscópicas disseminadas (DTCs). Estes depósitos não constituem, por si só, doença metastática, embora existam estudos que afirmem que em estádios precoces da doença, as DTCs se correlacionam com risco aumentado de recorrência e mortalidade e que, em doentes em estadiamento M1, estas células constituem um factor prognóstico de menor tempo de sobrevivência.[86]

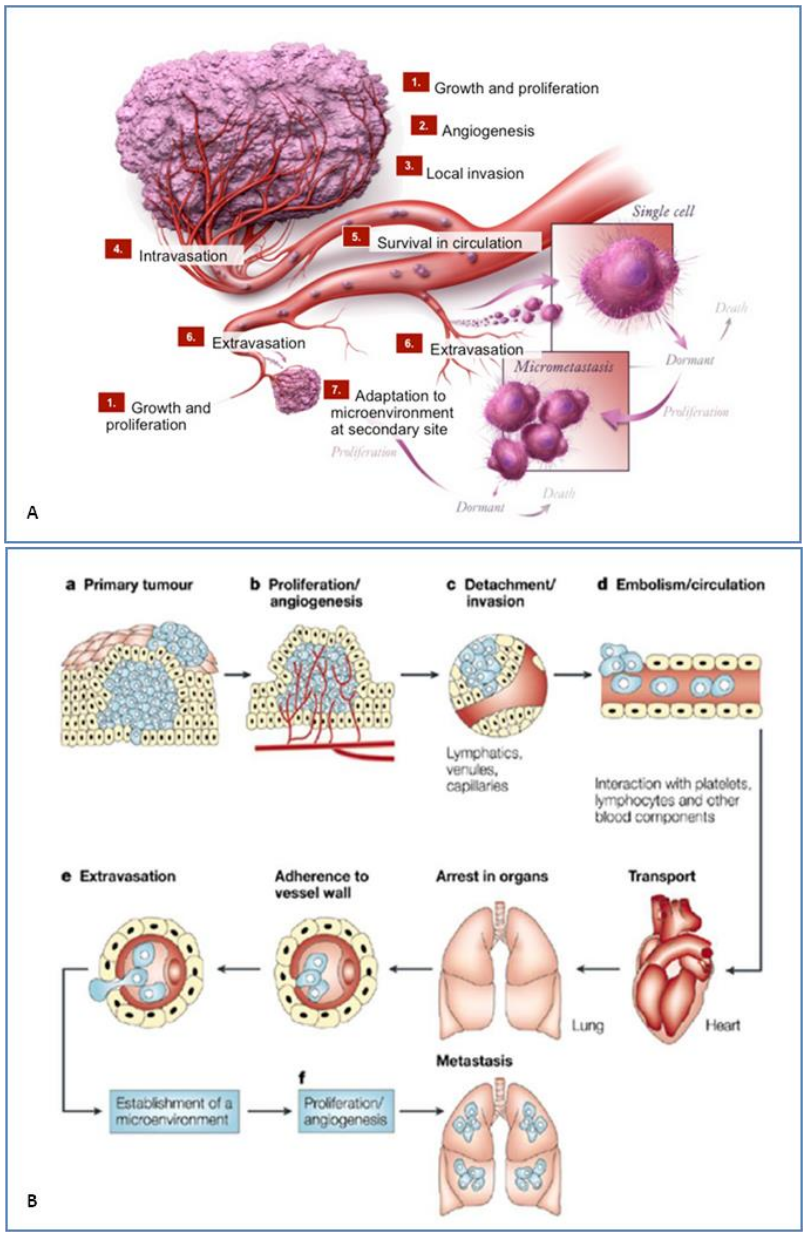


Figura 20. (A) Cascata metastática.[209,210] **(B)** Principais etapas da metastização.[211] **a)** Transformação celular e crescimento tumoral. O crescimento das células neoplásicas tem de ser progressivo, com os nutrientes para a massa tumoral em expansão a serem inicialmente fornecidos por difusão simples. **b)** Para que a massa tumoral possa vir a

exceder 1 a 2mm de diâmetro, tem de ocorrer vascularização extensa.[212] É estabelecida uma rede capilar aos tecidos hospedeiros adjacentes através da síntese e secreção de factores angiogénicos.[212] **c)** A invasão local do estroma hospedeiro por células tumorais ocorre através de vários mecanismos paralelos.[213] Vénulas de paredes finas como os canais linfáticos oferecem muito pouca resistência à penetração por células tumorais, fornecendo a via mais comum de entrada em circulação destas células.[214,215] **d)** Na etapa seguite, ocorre separação e embolização de células tumorais solitárias ou de agregados. A maioria das células tumorais circulantes é, no entanto, rapidamente destruída. Após sobreviverem à circulação, estas células ficam retidas nas camas capilares de órgãos distantes por adesão quer a células capilares endoteliais, quer à membrana basal subendotelial que pode encontrar-se exposta.[216] **e)** Seguidamente, ocorre extravasão, provavelmente por mecanismos semelhantes aos que actuam aquando da invasão. **f)** A proliferação no interior do parênquima do órgão completa o processo metastático. Para continuar a crescer, a micrometástase necessita de desenvolver uma rede vascular e evadir-se à destruição pelas defesas do hospedeiro.[212] As células podem, então, invadir os vasos sanguíneos, entrar na circulação sanguínea e produzir novas metástases.[217,218]

O estadiamento do cancro da mama é, frequentemente, relacionado com o tempo de sobrevivência, sendo que estádios mais baixos no momento do diagnóstico correspondem a taxas de sobrevivência mais elevadas, de acordo com a tabela 4.

Tabela 4. Relação entre o Estadiamento Inicial do Cancro da Mama e a Taxa de Sobrevivência a 5 anos:[86]

Estádio da Doença	% Sobrevivência a 5 Anos (SV5):
0	95-99%
I	90-94%
IIA	82-86%
IIB	60-70%
IIIA	50-55%
IIIB	42-48%
IV	15-18%

3.7 Meios Complementares de Diagnóstico

Cerca de ¾ dos cancros sintomáticos da mama apresentam-se como um nódulo mamário discreto. Contudo, a maioria dos doentes com sinais da doença apresentam patologia benigna. Neste contexto, a avaliação clínica inicial procura efectuar a distinção entre uma massa dominante e uma adenopatia glandular. As características físicas dos nódulos benignos e malignos sobrepõem-se substancialmente, pelo que a avaliação clínica completa envolve uma abordagem tripla, que reúne informação do exame clínico, do exame radiológico (mamografia e ecografia) e da biópsia percutânea.[160]

3.7.1 Mamografia

A mamografia de diagnóstico pode confirmar a suspeita clínica de malignidade e, tipicamente, mostra uma opacidade espiculada ou microcalcificação. Pode, por vezes, mostrar a extensão da malignidade (especialmente quando relacionada com microcalcificações) e identificar lesões ocultas (não palpáveis) na mama ipsilateral ou contra lateral. Este método de diagnóstico não mostra sinais de malignidade em 10% dos doentes com cancro da mama.[219]

3.7.2 Ecografia

A ecografia da mama com transdutores de 12-15 MHz é complementar da mamografia e aumenta a acuidade diagnóstica no cancro da mama. Fornece medidas da dimensão do tumor, correlacionando-se bem com as estimativas patológicas.[220,221]

3.7.3 Biópsia

O diagnóstico histológico é essencial e pode ser obtido através de citologia por aspiração com agulha fina ou por biópsia do nódulo. Antes das actuais técnicas de biópsia guiadas por imagem, a grande parte da obtenção dos tecidos envolvia excisão ou incisão abertas. As técnicas de biópsia percutânea fornecem, actualmente, um diagnóstico definitivo para a maioria das patologias benignas e malignas, sem o procedimento invasivo outrora necessário, apesar da possibilidade de ocorrência de resultados falsos negativos. Esta técnica produz núcleos sólidos de tecido, preservando a arquitectura tecidular, o que permite estabelecer a distinção entre carcinoma invasivo e *in situ*.[222–224]

3.7.4 Ressonância Magnética (MRI – *Magnetic Ressonance Imaging*)

Quando o exame clínico, o exame radiológico e a biópsia nodular ou a citologia aspirativa mostram apenas alterações benignas, a probabilidade de doença maligna é muito baixa. Na ausência de concordância entre as várias técnicas de diagnóstico, é justificada a biópsia por excisão cirúrgica, embora possa ser repetida a biópsia com agulha de grande diâmetro. A ressonância magnética (MRI) é utilizada selectivamente no quadro diagnóstico de doentes com cancro da mama para estabelecer a extensão da lesão e a presença de focos satélites em doentes potenciais candidatas a cirurgia conservadora da mama.[225] Contudo, vários estudos sugerem que doentes submetidos a MRI no seu processo diagnóstico são mais sujeitos a mastectomia desnecessária, em detrimento de cirurgia conservadora.[226,227] As taxas de recorrência tumoral ipsilateral são relativamente baixas e lesões adicionais detectadas por MRI podem não ser clinicamente relevantes, ou podem ser tratadas com terapêutica adjuvante adequada.[228,229] A triagem de cancro da mama com MRI é advogada em doentes de alto risco com presença de mutações BRCA1/2, sendo que nestes doentes, a sensibilidade de detecção de cancro da mama é superior por MRI do que por mamografia.[230]

3.7.5 ^{18}F-FDG PET/CT

Embora as técnicas de imagem comuns, como a tomografia computadorizada (CT, do inglês, *computed tomography*), ressonância magnética (MRI) e a ecografia possibilitem a visualização de estruturas anatómicas e morfológicas com grande resolução espacial, as imagens moleculares vão além do nível celular, apesar da perda de resolução espacial. Estas envolvem procedimentos diagnósticos, que possibilitam a identificação de precursores da doença aos níveis celular e molecular, mesmo antes de ocorrer manifestação clínica da doença. Por este motivo, constituem métodos de diagnóstico precoce de avaliação da localização e extensão de doença. A PET é uma das mais avançadas técnicas de diagnóstico médico em medicina nuclear (MN), com um papel importante na prática clínica em oncologia, detectando alterações metabólicas que ocorrem nos tecidos neoplásicos. Desempenha um papel importante ao nível do diagnóstico, estadiamento, seguimento de doentes, avaliação de resposta à terapêutica, planeamento da radioterapia, estudo de doentes com metástases de tumor de origem desconhecida, entre outros. Utiliza substâncias de interesse biológico (açúcares, aminoácidos (a.a.), hormonas, etc.), marcadas com isótopos emissores de positrões, que permitem visualizar *in vivo* diversos processos fisiológicos ou fisiopatológicos. Dos isótopos emissores de positrões, com curto

período de semi-desintegração, os mais importantes são o carbono-11 (20 min.), o azoto-13 (10 min.), o oxigénio-15 (2 min.), e o flúor-18 (110 min.). A PET com recurso ao análogo radiomarcado da glicose ^{18}F-FDG (fluoro-2-deoxi-glicose marcada com flúor-18) permite a detecção de processos de glicólise em células cancerígenas. O princípio de marcação da ^{18}F-FDG é o mesmo que o utilizado para outros radiofármacos: um emissor de radiação, o flúor-18 (^{18}F). Este é um isótopo radioactivo do flúor, que vai marcar uma molécula análoga à glicose, a desoxiglicose (FDG), permitindo avaliar a via glicolítica do metabolismo tumoral no organismo. A ^{18}F-FDG é, portanto, um análogo sintético da glicose que tem incorporado um átomo de ^{18}F.

A PET com ^{18}F-FDG fornece informações funcionais, bioquímicas e fisiológicas sobre os tumores, baseando-se no facto de as células cancerígenas serem hipermetabólicas, apresentando níveis elevados de consumo de glicose. Estas células apresentam hiper-regulação de um complexo genético responsável pelo aumento da vascularização local e pela sobrexpressão de transportadores transmembranares da glicose, entre outras características que lhes proporcionam capacidades vantajosas em termos de crescimento e proliferação. Estes factores são responsáveis por um fluxo anormalmente elevado de glicose para o seu interior.

Apesar das inúmeras características vantajosas que lhes são atribuídas, as imagens PET seriam por si só, e em certas situações, incapazes de traduzir a localização precisa de áreas de actividade aumentada, devido à ausência de definição de estruturas anatómicas, particularmente ao nível abdominal. O reconhecimento desta limitação conduziu à formulação e desenvolvimento de algoritmos de co-registo de informação funcional e anatómica que desencadearam o evento da chamada "imagem híbrida", produzida a partir da fusão de imagens funcionais e anatómicas, obtidas virtualmente ao mesmo tempo, a partir de um único tomógrafo PET/CT, sem necessidade de mover o doente entre dois sistemas de aquisição distintos.[231] As vantagens da tecnologia híbrida PET/CT sobre a tecnologia PET dedicada incluem: localização precisa de pequenas áreas focais de acumulação aumentada do radiofármaco, que seria difícil, senão mesmo impossível, se utilizados sistemas PET simples e distinção entre estruturas que demonstram, por norma, elevada actividade metabólica e estruturas de actividade anormalmente elevada. Para além disso, a PET/CT combina as vantagens da excelente informação funcional fornecida pela PET, a elevada resolução espacial e o óptimo contraste da CT, que possibilita, ainda, a correcção de atenuação necessária à avaliação quantitativa ou semi-quantitativa dos dados.[231]

Na avaliação de doentes com cancro da mama, a PET/CT constitui, assim, uma modalidade imagiológica não invasiva, amplamente utilizada que é, no entanto, muitas vezes reduzida ao estadiamento inicial, restadiamento, monitorização de resposta à terapêutica, detecção de recorrência ou de doença residual e metastática, não sendo utilizada no diagnóstico inicial de massas mamárias (detecção e diagnóstico diferencial) ou no estadiamento ganglionar axilar.[98,232–235] Os valores de sensibilidade da PET variam entre 20 e 100% e de especificidade entre 65 e 100%.[236,237] Estes registos indicam que, possivelmente, a razão de captação de ^{18}F-FDG

órgão alvo/fundo é demasiado baixa em todas as formas de cancro da mama para que seja possível a utilização da PET na detecção das lesões mais pequenas. Para além disso, o contraste tumoral parece ser menos definido devido à densidade mamária, já que os tecidos glandulares densos apresentam maior captação de ^{18}F-FDG do que tecidos adiposos na mama. Alguns estudos referem sensibilidade de 53% dos estudos PET na detecção de lesões primárias de dimensões inferiores a 5mm e 92% para lesões maiores do que 20mm.[232,236,238,239] No entanto, alguns autores sugerem uma acuidade diagnóstica muito próxima entre MRI e ^{18}F-FDG PET/CT na avaliação local de doença, com a PET a demonstrar vantagens significativas ao detectar gânglios linfáticos invadidos ou metastização à distância, para os quais a RM não demonstra capacidade de detecção.[240–242] A PET apresenta algumas limitações no diagnóstico inicial do cancro da mama, sobretudo relacionadas com a falta de sensibilidade associada a resolução limitada para lesões de pequenas dimensões. Contudo, neste contexto, esta técnica desempenha um papel importante num grupo particular de doentes, como doentes com mamas densas, com implantes ou com outras cirurgias, na determinação de múltiplas lesões, na localização do tumor primário em doentes com metástases de origem mamária quando a mamografia é inconclusiva ou em doentes em que não é indicada a realização de biópsia.[243–246]

O estádio ganglionar linfático axilar é o indicador prognóstico mais poderoso em doentes com cancro da mama. No que diz respeito a metastização dos gânglios linfáticos, a PET não é suficientemente sensível para detectar metástases microscópicas em adenomegalias axilares, mas apresenta valores de 97% de sensibilidade e 100% de especificidade para metástases maiores do que 3cm.[247,248] Alguns estudos sugerem que a PET apresenta utilidade diagnóstica na identificação de tumores de dimensões superiores a 2cm, mas tem limitações na detecção de doença micrometastática.[4,234,237] A PET demonstra, também, utilidade diagnóstica na determinação de um panorama mais abrangente do envolvimento do cancro da mama, ao determinar, num único estudo e em doentes em estádio mais avançado, envolvimento ganglionar, da pele, extensão do tumor, incluindo envolvimento da mama contra lateral, não detectados pelos meios diagnósticos padrão e ao localizar metástases insuspeitas melhor do que qualquer outra modalidade diagnóstica.[249] Neste caso, a PET demonstra sensibilidade de 86% e especificidade de 90% na detecção de metástases pulmonares, ósseas, hepáticas e ganglionares mediastínicas, comparativamente a 36% de sensibilidade e 95% de especificidade de outras técnicas.[250]

Relativamente à monitorização da resposta à terapêutica neoadjuvante, alguns estudos reportam sensibilidades e especificidades de 77 e 80%, respectivamente. Tumores que respondem à terapêutica com uma redução de mais de 40% nos valores de $SUV_{max.}$ (*maximum standardized uptake value*), enquanto tumores que não respondem à terapêutica registam aumento, ausência de variação ou apenas pequena redução no valor médio de $SUV_{max.}$ (declínio de cerca de 24% na captação de ^{18}F-FDG por parte destes tumores). Todos os doentes com bom prognóstico apresentam redução do $SUV_{max.}$ superior a 40%.[232] Estudos de doentes com cancro da mama

localmente avançado, relatam valores de 93%, 75% e 87% de sensibilidade, especificidade e acuidade da PET, respectivamente.[251] A ^{18}F-FDG PET/CT fornece, assim, informação prognóstica útil na avaliação da resposta a terapêutica neoadjuvante e na avaliação da resposta à terapêutica sistémica, apesar de doença residual mínima não ser facilmente detectável, por insuficiente resolução da técnica. Doentes que não respondem à terapêutica e doentes com doença progressiva ou metastização à distância podem ser identificados bastante cedo, informação que pode revelar-se substancialmente útil ao possibilitar a alteração da abordagem terapêutica e evitando efeitos secundários de tratamentos não eficazes.[237]

A detecção precoce de recidiva pode acarretar importante impacto na sobrevivência do doente, ao induzir a utilização de novas terapêuticas ou de cirurgias curativas ou paliativas. A recorrência loco/regional afecta, com maior frequência, a mama, pele, gânglios axilares ou supra-claviculares e/ou a parede torácica, sendo difícil de distinguir verdadeira recidiva de sequelas pós-cirúrgicas ou de radiação, recorrendo aos meios convencionais de imagem.[237]

3.8 Abordagens Terapêuticas

Existem dois teoremas biopatológicos responsáveis pela orientação da terapêutica loco/regional e sistémica no cancro da mama. Segundo o paradigma *Halstediano*, o cancro da mama é inicialmente uma doença localizada com disseminação sequencial progressiva dos tecidos normais para os gânglios linfáticos, seguida de disseminação hematogénica.[159,160] O paradigma de *Fisher* (ou paradigma micrometastático) preconiza que o cancro da mama é, desde a sua génese e predominantemente, uma doença sistémica, com as células cancerígenas a entrarem na circulação sanguínea numa fase inicial do desenvolvimento tumoral. As células tumorais circulantes podem ser destruídas pelo sistema imunitário, ou estabelecer focos de micrometástases viáveis em locais distantes do foco inicial da doença.[159,160,252,253] A micrometastização existente por altura do diagnóstico determina o desenlace clínico da doença e a possibilidade da sua ocorrência sustenta a definição do plano terapêutico a utilizar, sendo o alicerce da aplicação das terapêuticas sistémicas adjuvantes.

3.8.1 Cirurgia

A abordagem cirúrgica da neoplasia mamária pode ser consumada por via conservadora ou não conservadora. A primeira abordagem visa, como o próprio nome indica, conservar a mama da doente. Pode ser realizada com recurso a tumorectomia, técnica que implica apenas a remoção do tumor, ou a quadrantectomia, procedimento que envolve remoção do tumor, de uma porção de

tecido normal que envolve o tumor e do tecido que recobre a zona do peito localizada abaixo do tumor. A abordagem conservadora é indicada nos estádios I e II da doença e pode ser associada a correcção plástica da(s) mama(s), para evitar assimetrias e cicatrizes desnecessárias. A abordagem não conservadora não implica qualquer conservação da mama. É preconizada para estádios mais avançados da doença e pode ser efectuada de três modos distintos: mastectomia simples ou total, mastectomia radical modificada ou mastectomia radical. A mastectomia simples implica apenas a remoção da mama, sendo que os gânglios linfáticos mais próximos são, por vezes, também removidos. É utilizada em casos de tumor difuso, mantendo-se a pele da mama, que auxiliará na reconstrução plástica. A mastectomia radical modificada envolve remoção da mama, dos gânglios linfáticos axilares e do tecido que reveste os músculos peitorais. A mastectomia radical implica amputação da mama, dos músculos peitorais, de todos os gânglios linfáticos axilares, de alguma gordura em excesso e de pele, tal como representado na figura 21.[254]

A introdução da abordagem conservadora na cirurgia mamária relaciona-se com a redução do tamanho do tumor por altura do diagnóstico e da alteração verificada na hipótese biológica subjacente à génese do cancro da mama. Esta técnica constitui actualmente um procedimento bem estabelecido na gestão do tratamento do cancro da mama em doentes com doença em estádio precoce. A generalização da utilização da mamografia como ferramenta de vigilância e rastreio desta patologia, contribuiu para uma detecção mais precoce, com diminuição da dimensão média dos tumores para 2cm ou menos. Pelo menos 2/3 dos doentes podem beneficiar de cirurgia conservadora da mama, devendo verificar-se a ponderação do risco de recidiva ipsilateral da doença face aos prejuízos cosméticos de uma intervenção radical, não conservadora. Contudo, a cirurgia oncoplástica tem sido capaz de obviar os limites da ressecção cirúrgica.[160,255]

As indicações cirúrgicas no cancro da mama são dependentes do tipo de tumor e do estadiamento realizado por altura do diagnóstico. No carcinoma lobular *in situ* é apenas indicada a tumorectomia, de acordo com o representado na figura 21(B). Já no CDIS a mastectomia simples é curativa em 98% das situações, representando, contudo, um procedimento excessivamente mutilador na maioria dos casos. Os tumores com diâmetro inferior a 2cm e margens cirúrgicas livres de comprometimento podem ser tratados pela ressecção segmentar seguida da radioterapia complementar. Os carcinomas invasivos com diâmetro tumoral inferior a 3cm devem ser tratados por mastectomia radical. Pesquisas do Instituto de Tumores de Milão, demonstraram que tumores com dimensões inferiores a 3cm, tratados por quadrantectomia, seguida de linfadenectomia axilar e radioterapia, têm os mesmos resultados oncológicos do que aqueles tratados por mastectomia radical.[160,254] Já tumores com dimensões superiores a 3cm, multifocais ou com componente inflamatório associado, deverão ser tratados por mastectomia com linfadenectomia (com ou sem terapêutica sistémica adjuvante). Nestes casos, as técnicas modificadas realizadas de acordo com a representação da figura 21(C), com preservação de um ou de ambos os músculos peitorais,

deverão ser as mais aplicadas, pois asseguram resultados semelhantes às técnicas radicais, facilitam a reconstrução plástica e reduzem a morbilidade. Em suma, devem ser considerados dois factores determinantes de verdadeira recidiva local na mama conservada: estado das margens e presença ou ausência de excessiva componente *in situ*. Invasão linfática e idade reduzida (<35 anos) são os principais indicadores de risco aumentado de recidiva local.[256]

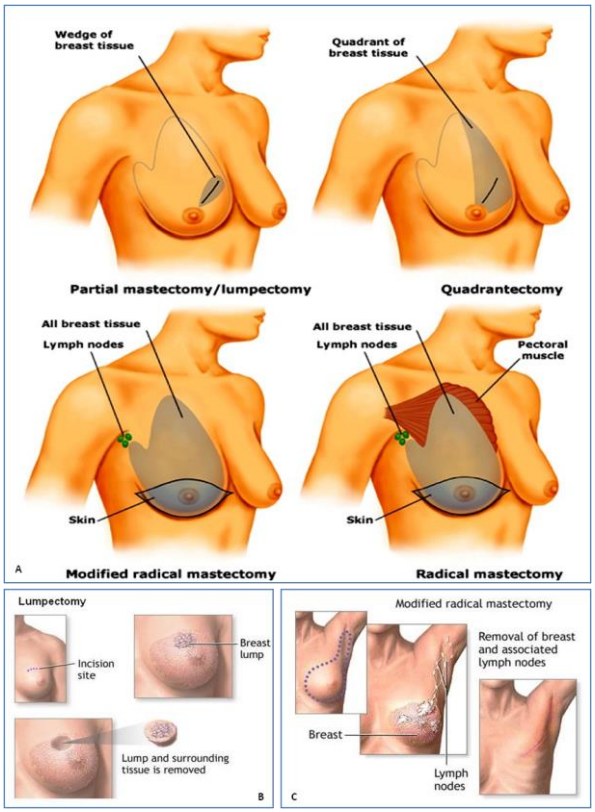


Figura 21. Abordagens cirúrgicas no tratamento do cancro da mama. **(A)** Ilustração comparativa das quatro abordagens cirúrugicas existentes: tumorectomia, quadrantectomia, mastectomia radical modificada e mastectomia radical. **(B)** Representação esquemática pormenorizada da tumorectomia. **(C)** Representação esquemática pormenorizada dos tecidos envolvidos na mastectomia radical modificada.[257,258]

Sempre que indicada uma mastectomia em doentes com bom prognóstico e boas condições clínicas, pode também ser indicada a reconstrução mamária, uma vez que não interfere no prognóstico oncológico das doentes, condicionando, isso sim, melhores equilíbrio emocional e qualidade de vida.[160]

3.8.2 Radioterapia

Após cirurgia conservadora, toda a mama das doentes submetidas a esse tipo de terapêutica deve ser irradiada, independente do tipo histológico, idade, quimioterapia e/ou hormonoterapia e mesmo com margens cirúrgicas livres de comprometimento neoplásico, de modo a reduzir drasticamente o risco de recidiva local.[160,253] O reforço da dose na área tumoral (*boost*) está indicado nas doentes com menos de 50 anos, com mais de 25% de carcinoma ductal *in situ* na peça cirúrgica, na presença de margens exíguas (<1cm), comprometidas ou desconhecidas e em tumores com alta agressividade local. Relativamente aos carcinomas ductais *in situ*, se a opção for a cirurgia conservadora, as doentes devem ser submetidas a radioterapia pós-operatória de toda a mama. Na indicação do *boost*, é necessário ter em conta o tamanho do tumor, grau nuclear e margens cirúrgicas.

A radioterapia pós-mastectomia está indicada caso se verifique algum dos seguintes parâmetros: tumores de dimensões superiores ou iguais a 5cm, pele comprometida, doença em estádio III, dissecção axilar inadequada (menos de 10 gânglios linfáticos), invasão extra-capsular nodular linfática, margem comprometida (<1cm) e presença de quatro ou mais gânglios linfáticos comprometidos. A radioterapia pós-mastectomia reduz o risco de recidiva local em doentes sem invasão ganglionar axilar, mas não parece estar relacionada com a redução da mortalidade entre mulheres submetidas a este tratamento.[160,259–261] A utilização de quimioterapia com antraciclinas no período pós-operatório, tanto das cirurgias conservadoras como das mastectomias, protela o início da radioterapia para o términus da terapêutica sistémica, pelo que não deve ultrapassar o período de 6 meses após cirurgia. A indicação de irradiação das cadeias linfáticas é a mesma tanto para as cirurgias conservadoras como para as mastectomias. A presença de um único nódulo linfático comprometido é indicação suficiente para irradiação da cavidade supra clavicular ipsilateral da mama afectada.

3.8.3 Terapêutica Sistémica Adjuvante: Quimioterapia e Hormonoterapia

Os fármacos existentes para tratamento do cancro da mama têm como alvo as características implicadas no crescimento e proliferação tumoral das células cancerígenas, de acordo com a figura 22.[254] A incorporação de terapêuticas sistémicas adjuvantes no tratamento multidisciplinar do cancro da mama conduziu a melhorias significativas nas taxas de tempo livre de doença e de sobrevivência. A indicação destas terapêuticas após cirurgia definitiva baseia-se em factores prognósticos bem estabelecidos que incluem idade, comorbilidades, envolvimento ganglionar axilar, tamanho e grau do tumor. Para além destes factores clínico-patológicos,

análises moleculares efectuadas ao tumor podem ajudar a determinar o risco de recidiva em doentes com cancro da mama em estádio precoce, bem como a identificar classes tumorais biologicamente distintas.[262]

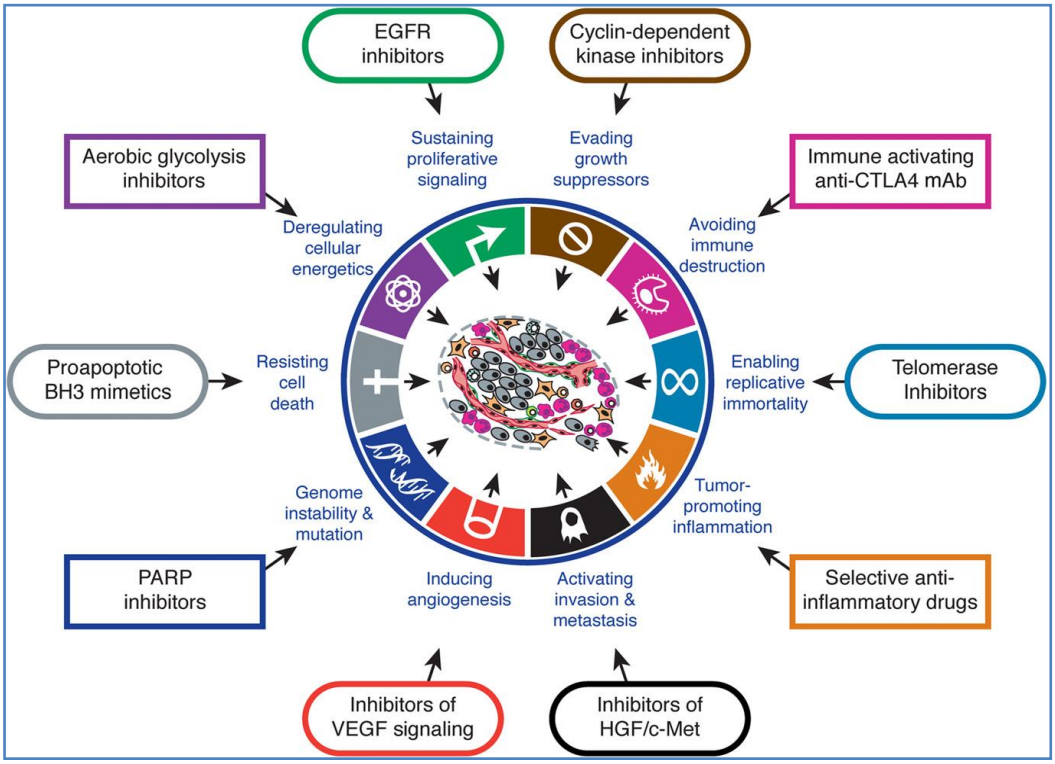


Figura 22. Alvos terapêuticos da doença oncológica.[15]

A resposta dos tumores da mama à manipulação hormonal possibilita uma oportunidade terapêutica direccionada única. O tamoxifeno, anti-estrogénio, oferece uma redução de 26% na mortalidade e de 47% na recidiva local (seguimento clínico de 10 anos), sendo o seu benefício confinado aos tumores ER+.[201] Todas as doentes com este receptor hormonal positivo podem ser submetidas a hormonoterapia com tamoxifeno**,** 20 mg/dia durante 5 anos, associado ou não à quimioterapia.

Também os inibidores da aromatase representam um importante avanço na terapêutica endócrina do cancro da mama. Os agentes orais (anastrozol, letrozol e exemestano) apresentam eficácia anti-tumoral equivalente e são potencialmente permutáveis.[263] Doentes com cancro da mama permanecem em risco crónico de recidiva e os inibidores da aromatase possibilitam a extensão da terapêutica adjuvante para além dos 5 anos, através da utilização de um agente com um mecanismo de acção diferente.[264]

A quimioterapia adjuvante melhora as taxas de tempo livre de doença e a sobrevivência de doentes com cancro da mama em estádio precoce, independentemente do estado ganglionar. Poliquimioterapia adjuvante deve ser recomendada em doentes com tumores de dimensões superiores a 1cm, independentemente do estado nodular linfático, receptores hormonais, idade ou menopausa. Tumores de dimensões inferiores a 1cm implicam uma decisão individualizada.[265–267] As antraciclinas e os taxanos são considerados as formas de quimioterapia mais efectivas no quadro adjuvante. Os taxanos (paclitaxel e docetaxel) não têm resistência cruzada com agentes convencionais e o seu mecanismo de acção é estabilizar e prevenir a desagregação de microtúbulos com disrupção do fuso mitótico.[268]

O trastuzumab (Herceptin) é um anticorpo monoclonal direccionado contra o domínio extracelular de HER2, uma tirosina quinase envolvida no crescimento e proliferação celular. A amplificação deste gene ou, de outra forma, a sobrexpressão da proteína de superfície celular encontra-se associada a um prognóstico desfavorável.[269] A expressão de HER2 no tumor primário ou nos depósitos metastáticos deve ser determinada em todos os doentes com cancro da mama por imunohistoquímica ou por hibridização *in situ*.[270] Se o doente for HER2+, o trastuzumab melhora as taxas de tempo livre de doença e de sobrevivência, independentemente da idade, do estado da axila ou da presença/ausência dos receptores hormonais.[271–273]

3.8.4 Terapêutica Sistémica Primária

O objectivo da introdução de terapêutica sistémica primária (ou terapêutica neo-adjuvante) foi, inicialmente, reduzir o volume tumoral de tumores localmente avançados, tornando tumores irressecáveis em ressecáveis e, posteriormente, possibilitar a cirurgia conservadora nos tumores inicialmente indicados para mastectomia radical.[274,275] O plano quimio-terapêutico utilizado deve conter antraciclinas (doxorrubicina ou epirrubicina) associadas a taxanos ou ciclofosfamida e fluorouracil, administrando-se de 3 a 4 ciclos de acordo com a resposta da doença.[254] A redução do estadiamento pode diminuir para metade as necessidades de mastectomia e a cirurgia conservadora é mais utilizada em tumores unifocais, com o foco da doença afastado da zona do complexo aureolar.[276,277] A resposta à quimioterapia neo-adjuvante constitui um excelente factor preditivo de tempo livre de doença. [160,254]

4. Mecanismos de Captação de Glicose

São conhecidos dois processos metabólicos através dos quais as células dos mamíferos obtêm energia: fermentação láctica e respiração aeróbia. A glicose é incluída no espaço intracelular por transportadores de membrana específicos e convertida em glicose-6-fosfato pela hexoquinase e esta, subsequentemente, em piruvato, gerando 2 moléculas de ATP por molécula de glicose. Este processo é designado glicólise e constitui uma via metabólica universal, uma vez que ocorre sempre na presença ou ausência de oxigénio. A glicólise é, portanto, a quebra parcial da glicose. São dez reacções químicas que transformam uma molécula de glicose em duas moléculas de piruvato, com o saldo de duas moléculas de ATP. O piruvato pode continuar a ser degradado para fornecer mais energia à célula. No entanto, a sequência de reacções das quais resulta a degradação do piruvato depende da disponibilidade ou não de oxigénio e, também, da capacidade do organismo ou célula para o utilizar.[278,279]

Na ausência de oxigénio (O_2) ou em organismos incapazes de o utilizarem, o piruvato segue a via anaeróbia, designada fermentação. Na presença de oxigénio e se o organismo for capaz de o utilizar, o piruvato segue a via aeróbia, também denominada de respiração celular.

Na fermentação, a ausência de O_2 interrompe a degradação da glicose e desvia o piruvato para reacções em que será transformado num produto com o número de carbonos igual ou semelhante ao que tinha antes (3C). Assim, na fermentação láctica o piruvato é convertido em lactato e na fermentação alcoólica, em etanol. Este mecanismo ocorre exclusivamente no citosol. A glicose ($C_6H_{12}O_6$) é convertida em piruvato ($C_3H_5O_3$) no processo de glicólise originando, subsequentemente, o produto de excreção lactato ($C_3H_7O_3$) que é posteriormente libertado na circulação sanguínea. Uma vez que não existe síntese de ATP adicional na conversão do piruvato em lactato, todo este processo origina, no seu conjunto, duas moléculas de ATP por molécula de glicose, de acordo com o representado na figura 23.[278,279]

Na presença de O_2 o piruvato segue outras vias metabólicas que o conduzirão à sua degradação completa e à formação de um número bastante superior de moléculas de ATP. Durante este processo, a glicose e outros substratos são completamente oxidados a dióxido de carbono (CO_2) e água (H_2O). A respiração aeróbia engloba, portanto, mecanismos de glicólise, ciclo de *Krebs* e fosforilação oxidativa (OXPHOS, do inglês, *Oxidative Phosphorylation*), com estas duas últimas etapas a ocorrerem no interior da mitocôndria (figura 24). Constitui um processo muito mais complexo, mas com maior produção energética do que a fermentação láctica (cerca de 15 vezes mais energia produzida), mas apenas pode ocorrer na presença de oxigénio, que funciona como espécie receptora de electrões.[278,279]

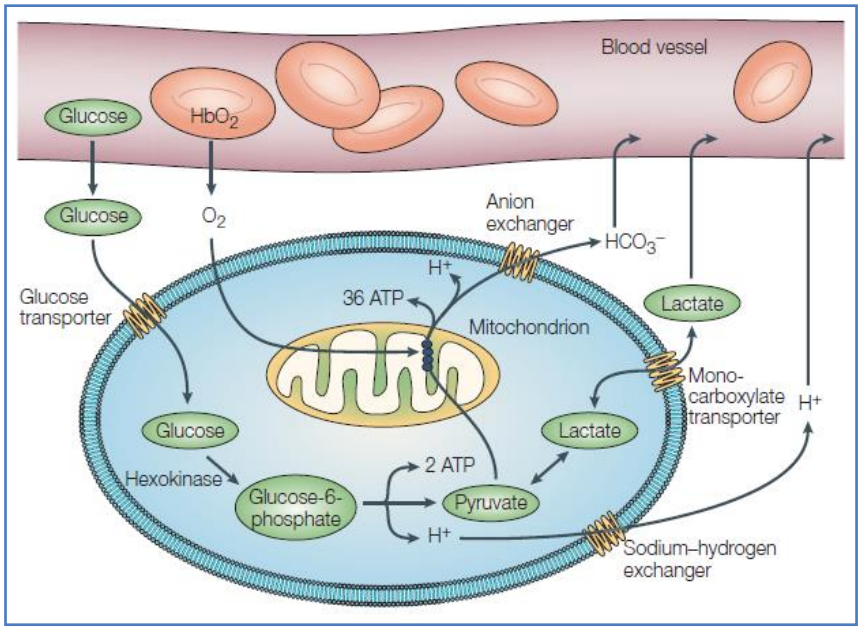


Figura 23. Metabolismo da glicose em células de mamíferos.[280]

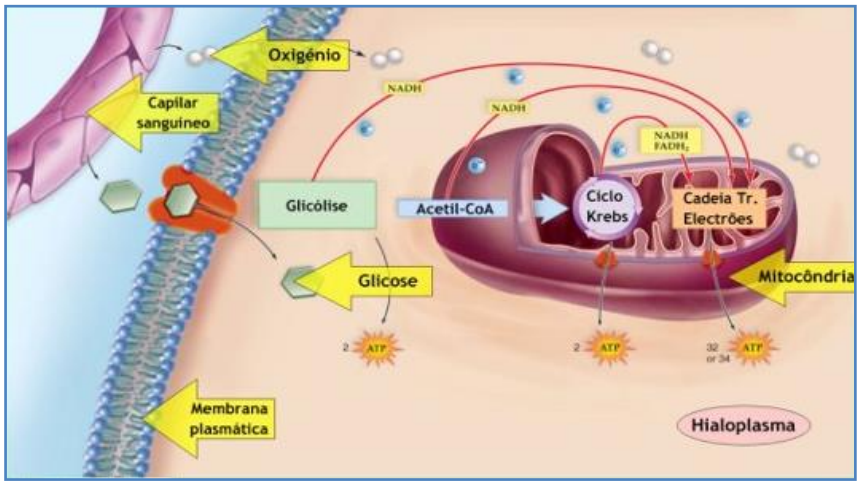


Figura 24. Respiração aeróbia. Conjunto de reacções químicas que extrai, gradativamente, a energia acumulada em moléculas de substâncias orgânicas diversas, originando substâncias mais simples. A extracção ocorre em três etapas: glicólise, ciclo de Krebs e cadeia respiratória.[281]

Na presença de O_2, o piruvato é temporariamente oxidado a HCO_3^- (bicarbonato), gerando 36 moléculas adicionais de ATP por molécula de glicose. Na ausência de O_2, o piruvato é reduzido a lactato, que é exportado da célula. Ambos os processos produzem iões de hidrogénio (H^+), que causam acidificação do espaço extracelular.[280] A geração de lactato durante a glicólise anaeróbia permite a continuação do processo de glicólise (transformando NADH (estado reduzido da nicotinamida adenina dinucleótido) novamente em NAD^+ (estado oxidado da nicotinamida

adenina dinucleótido), mas resulta numa produção mínima de ATP quando comparada com a OXPHOS, tal como representado na figura 25.[69]

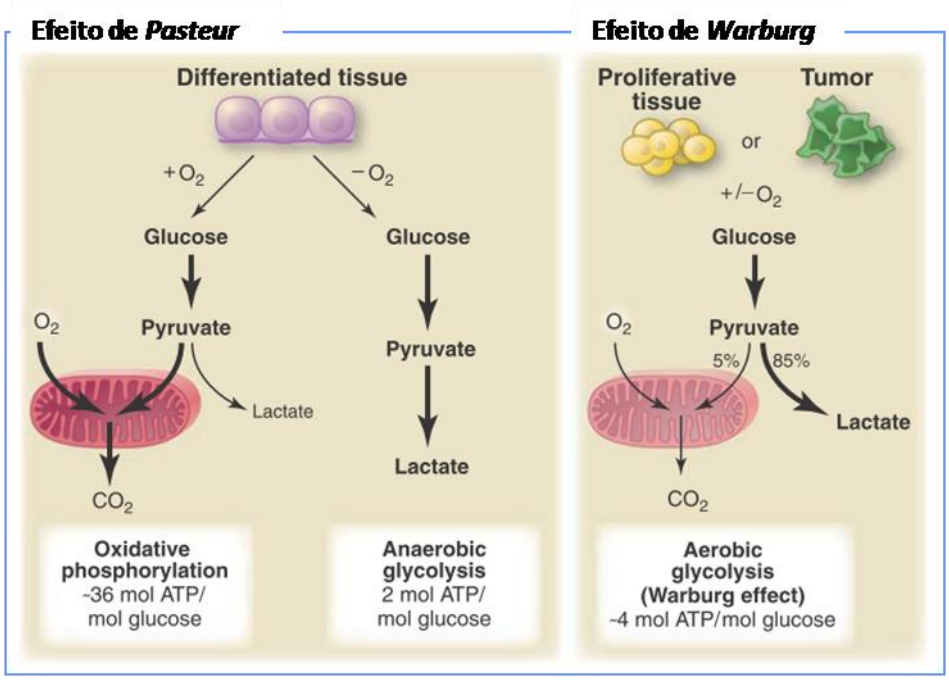


Figura 25. Representação esquemática das diferenças entre fosforilação oxidativa, glicólise anaeróbia e glicólise aeróbia (efeito de *Warburg*).[69]

A conversão de glicose em ácido láctico na presença de oxigénio é conhecida como glicólise aeróbia ou efeito de *Warburg* e pode ser observada de forma única na doença cancerígena. Este fenómeno tem sido observado em inúmeros estudos realizados desde *Warburg* e deu origem à hipótese, enunciada pelo mesmo autor, de que o cancro resulta de comprometimento do metabolismo mitocondrial. Este princípio revelou-se incorrecto, mas as observações experimentais da glicólise aumentada nas mais diversas formas tumorais têm sido repetidamente verificadas.[57,58,280,282–287] Um aumento da glicólise pode também ser observado nos tecidos proliferativos normais. Em qualquer das situações a mitocôndria permanece funcional e continua a ocorrer alguma OXPHOS. Contudo, a glicólise aeróbia é, como já foi referido, menos eficiente do que a OXPHOS na geração de ATP. Em células proliferativas, cerca de 10% da glicose é desviada no sentido das vias biossintéticas posteriores à produção de piruvato.[69]

A captação aumentada de glicose em células cancerígenas constitui a característica que fundamenta a utilização da PET com ^{18}F-FDG na detecção *in vivo* de tumores.[278–280,288–293] A avaliação de milhares de doentes oncológicos através de estudos PET com ^{18}F-FDG demonstrou, inequivocamente, que a maioria das formas humanas de cancro, primitivos e metastáticos, manifesta captação de glicose significativamente aumentada (figura 26).

A glicose é transportada para o meio intracelular, sobretudo através de transporte facilitado por proteínas de membrana (GLUTs) que compreendem 13 isoformas com distinto padrão cinético, diversa especificidade de hexoses e diferente localização nos tecidos. Células pertencentes a diferentes tecidos apresentam, neste contexto, capacidades distintas para captar glicose e para, consequentemente, a utilizar na glicólise e noutras vias metabólicas.[279,294,295]

Figura 26. Imagem de ^{18}F-FDG PET para avaliação funcional e estadiamento de lesão lítica do sacro, detectada em cintigrama ósseo. A PET revela múltiplas áreas de aumento de captação de ^{18}F-FDG, sugerindo extensa e marcada metastização óssea, suspeita de lesão maligna sediada no lobo superior do pulmão direito, áreas de hipercaptação anómala de ^{18}F-FDG que levantam a suspeita de lesões secundárias musculares e, no fígado, uma área de hipercaptação suspeita de metástase hepática.

4.1 Glicólise

O metabolismo celular é dividido em 2 tipos: anabolismo e catabolismo. O anabolismo é a fase construtiva do metabolismo, na qual a célula utiliza energia para produzir moléculas necessárias à realização de inúmeras funções orgânicas. O catabolismo, por sua vez, é a fase destrutiva, na qual moléculas complexas são degradadas, libertando energia que será utilizada na produção de ATP. Durante o catabolismo são também libertados electrões que são captados, por exemplo, pela coenzima NAD^+, que se transforma em NADH. Esta coenzima produz, posteriormente, ATP na cadeia transportadora de electrões. Assim, e em geral, as vias catabólicas são vias que produzem energia e as vias anabólicas são vias consumidoras de energia. A via central do metabolismo é a chamada via glicolítica ou glicólise. Através desta via, a glicose é inicialmente degradada, libertando parcialmente a energia nela contida.

A glicólise constitui uma via metabólica assente em 10 reacções enzimáticas, que ocorre no citoplasma celular, desencadeando a conversão da glicose em piruvato (ou lactato), num processo exergónico que, concomitantemente, origina ATP a partir de ADP (adenosina difosfato) e de P_i (radical fosfato inorgânico), num processo, por sua vez, endergónico. No início da via ocorrem 5 reacções enzimáticas que consomem energia (2 ATP), representadas na figura 27. Nas reacções seguintes são produzidos 4 ATP e 2 NADH por cada molécula inicial de glicose.

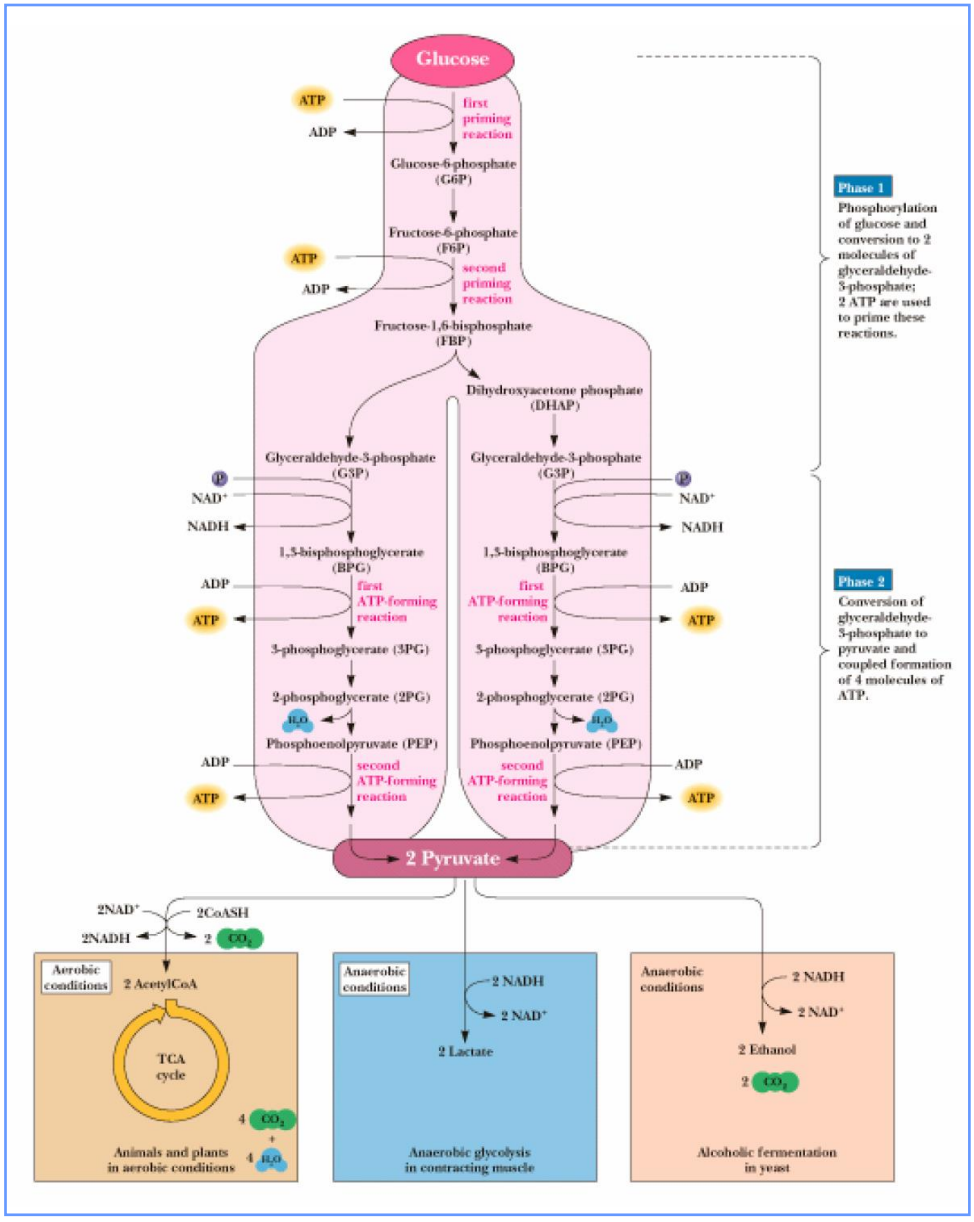


Figura 27. Sequência bioquímica da glicólise.[296]

As enzimas da glicólise constituem, no seu conjunto, o sistema que permite a conjugação dos dois processos. Este sistema é constituído pelas quinases da glicose ou das hexoses, pela isomerase das fosfohexoses, pela quinase-1 da frutose-6-fosfato, pela aldolase, pela isomerase das trioses-fosfato, pela desidrogenase do gliceraldeído-3-fosfato, pela quinase do 3-fosfoglicerato, pela mutase do fosfoglicerato, pela enolase e pela quinase do piruvato. Tal como em todas as vias metabólicas, um dos produtos formados pela acção catalítica de uma enzima é substrato de uma outra enzima permitindo compreender que se possa desenhar uma cadeia sequenciada de reacções e que, no seu conjunto, as enzimas da glicólise convertam glicose em piruvato.

Na maioria das células do organismo a transferência da glicose para o citoplasma dá-se a favor do gradiente de concentração e o transporte é catalisado por proteínas da membrana que são *uniporters*, os GLUTs, que podem ser produtos de genes distintos em órgãos distintos.

Em condições aeróbias, a glicose é totalmente oxidada, formando-se CO_2 e H_2O, através do ciclo de *Krebs* e da cadeia de transporte de electrões. No entanto, em condições anaeróbias a glicose dá origem a 2 moléculas de lactato ou 2 de etanol, dependendo do organismo e do tipo de metabolismo, reacção representada na figura 28. A fermentação láctica é de grande importância na produção de energia durante a actividade física intensa, ao longo da qual as células musculares podem realizar o metabolismo na ausência do oxigénio. A transformação do piruvato em ácido láctico ou etanol é um passo essencial para a manutenção da célula, uma vez que nessa transformação o piruvato recebe os protões e electrões da coenzima NAD reduzida e, dessa forma, a coenzima volta a ficar na forma oxidada. Durante a via glicolítica a hexoquinase, a fosfofrutoquinase e a piruvato quinase são as responsáveis pela sua regulação.

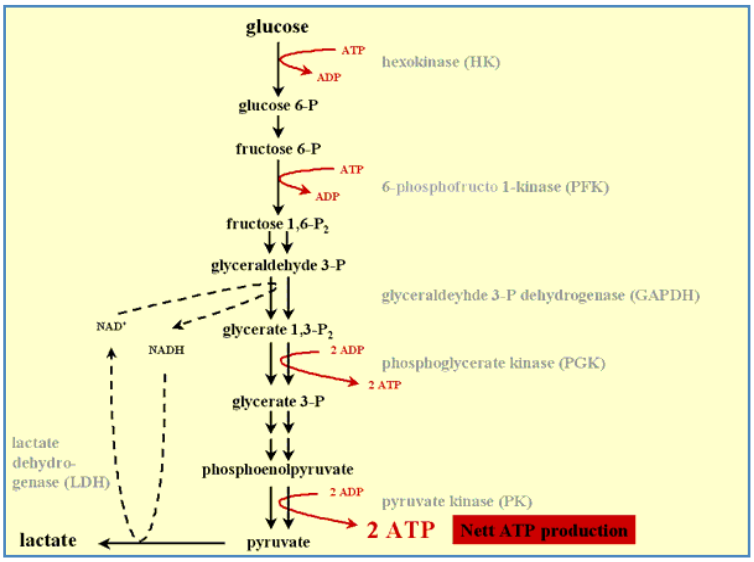


Figura 28. Sequência bioquímica da fermentação láctica.[297]

Em condições aeróbias o NADH formado pela redução do gliceraldeído segue para o ciclo do ácido cítrico no qual ocorre a sua completa oxidação com formação de CO_2 e H_2O. Neste caso o NADH é oxidado a NAD^+ a nível da cadeia transportadora de electrões, e a 3-fosfato de gliceraldeído desidrogenase pode continuar a actuar. [298]

4.2 Doença Oncológica e Actividade Celular Metabólica

Em qualquer célula que se divide e cresce, os requisitos energéticos aumentam nessas fases da vida celular. Este facto não é menos verdadeiro no que diz respeito às células cancerígenas. As células mamíferas normais utilizam o oxigénio para gerar energia a partir da glicose e de outros substratos através da OXPHOS. Apesar de os tumores induzirem a formação de novos vasos sanguíneos, capazes de manter um fornecimento de nutrientes e oxigénio ao tumor em crescimento, a angiogénese não acompanha o crescimento das células neoplásicas, o que resulta na formação de grandes áreas hipóxicas no interior tumoral. Para formar uma massa tridimensional, as células tumorais necessitam de alterar o seu metabolismo de modo a sobreviverem e crescerem em condições isquémicas.[299] As células neoplásicas que se encontram nestes locais não podem ser mortas por radiação ionizante (dependente de oxigénio), nem por fármacos incapazes de alcançarem esses locais. Uma característica destas condições isquémicas é a produção de grandes quantidades de ácido láctico, originado pela glicólise, na presença de concentrações reduzidas de oxigénio.[283] Esta condição é acompanhada pelo aumento da taxa de aporte de glicose.[300] É possível que o ácido láctico produzido nos tumores esteja envolvido na translocação dos transportadores de glicose do citoplasma para a membrana plasmática que, por sua vez, causa um aumento na utilização de glicose por estas células. Estes requisitos energéticos são satisfeitos por um aumento do aporte de glicose, conseguido por um aumento da expressão de transportadores de glicose e de um aumento na translocação dos transportadores para a membrana plasmática.[301]

A maioria das células depende maioritariamente do metabolismo oxidativo para obter a energia necessária às suas funções e crescimento, convertendo a glicose em dióxido de carbono e água quando o oxigénio está presente (efeito de *Pasteur*) mas invertendo o tipo de metabolismo para a formação anaeróbia de ácido láctico na ausência de oxigénio.[302] O efeito de *Warburg* refere que as células tumorais em proliferação consomem glicose em elevada taxa e libertam lactato em vez de dióxido de carbono sobretudo através de um mecanismo semelhante à fermentação que ocorre em condições aeróbias, pelo que, essas mesmas células não exploram a total capacidade do metabolismo oxidativo da glicose para produzir avidamente ATP.[303,304] Se o fluxo glicolítico

for elevado, o rendimento celular de ATP pode ser facilmente excedido se resultante da OXPHOS. Desta forma, a manutenção de um elevado fluxo glicolítico, requer NAD^+, que pode ser facilmente gerada pela conversão de piruvato em lactato. Esta conversão metabólica torna a glicólise auto-suficiente desde que seja possível a captação de glicose.[303]

A glicólise aeróbia é considerada uma forma relativamente ineficiente de produção de ATP, uma vez que os destinos catabólicos alternativos da glicose (ciclo de *Krebs* e cadeia de transporte de electrões), podem gerar 15-20 vezes mais ATP por unidade de glicose. O facto de a produção de lactato a partir de glicose conferir vantagem (em termos de crescimento) às células cancerígenas, é particularmente interessante já que, paradoxalmente, as células capazes de alcançar elevadas taxas de glicólise aeróbia não demonstram, frequentemente, elevação das taxas de consumo de oxigénio, mesmo em resposta a transformações sofridas na capacidade de captação de glicose, o que indica que o fluxo catabólico oxidativo através do ciclo de *Krebs* que conduz à geração mitocondrial de ATP é, de algum modo, independente do metabolismo de glicose.[60] A eficiência do metabolismo energético é, por este motivo, frequentemente discutida com base na suposição tácita de que as funções da célula são desempenhadas por esta individualmente. No entanto, muitos tecidos obtêm energia maioritária ou exclusivamente através da glicólise e excretam lactato na circulação. Estes tecidos não são prejudicados por causa da ineficiente síntese de ATP. Na realidade, o que se verifica é que utilizam maior quantidade de glicose, capacidade igualmente explorada pelas células tumorais, ao captarem mais glicose do que aquela de que carecem, de uma fonte tida como infinita, excretando lactato, que é potencialmente reciclável pelo hospedeiro.[302] Para as células dos mamíferos, cálculos efectuados demostram que a biossíntese não constitui uma importante fonte de consumo de ATP nas células tumorais.[305] Os requisitos de ATP para a manutenção e proliferação celulares podem ser variáveis em função do tempo de duplicação celular. Para células que se dividem em alguns minutos, a maioria do ATP é usada na replicação celular. Já para células que se dividem na ordem dos dias, como as células constituintes dos tecidos tumorais, quase todo o ATP é usado na manutenção celular. Assim, o efeito de *Warburg* não pode ser relacionado com a capacidade ideal de uma célula gerar ATP, sendo que a hidrólise de ATP pode constituir um factor limitativo, necessário para suportar as elevadas taxas de glicólise.[303] A estequiometria deste processo degradativo impõe restrições químicas quando ocorrem grandes fluxos de glicose. Considerando a equação química total da conversão da glicose em piruvato através da glicólise:

$$C_6H_{12}O_6 + 2P_i + 2ADP + 2NAD^+ \rightarrow 2C_3H_3O_3 + 2H_2O + 2ATP + 2NADH \text{ (eq. 1)}$$

Da análise da equação, torna-se evidente que a glicólise não é possível sem suficiente regeneração de ADP e de NAD^+. A redução de piruvato a lactato pela lactato desidrogenase constitui o mecanismo conhecido mais ubíquo para converter NADH de volta em NAD^+, processo

que equilibra a elevada taxa de glicólise que se observa em muitas células cancerígenas.[304] Deste modo, pode considerar-se a questão dos requisitos de ATP, uma das possíveis explicações para a maioritária conversão de piruvato em lactato, mesmo na presença de oxigénio, que ocorre nas células cancerígenas. A "ineficiente" produção de ATP constitui um problema somente quando os recursos são escassos, o que não sucede com este tipo de células que, continuamente, se abastecem de glicose e de outros nutrientes a partir da corrente sanguínea, fornecimento que garantem pela angiogénese que acompanha o seu crescimento e proliferação. Vários estudos que têm vindo a ser desenvolvidos acerca da regulação das vias metabólicas, reflectem a impossibilidade de o ATP constituir um factor limitativo nestas células. As células que promovem a glicólise aeróbia simultaneamente exibem elevadas taxas de produção de ATP/ADP e de NADPH/NAD^+ (complexo enzimático ligado à membrana plasmática ou, do inglês, *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate-Oxidase*/NAD^+). Pequenas perturbações na razão ADP/ATP podem prejudicar o crescimento celular, motivo pelo qual, frequentemente, células que exibem deficiência em ATP sofrem apoptose. Células proliferativas normais podem também sofrer interrupção do seu ciclo celular e reactivação do metabolismo catabólico quando se verifica um comprometimento na sua capacidade de produzir ATP a partir da glicose. As vias de sinalização têm como função detectar o estado de energia, facto sustentado pela existência de actividade de adenilatos quinases, que funcionam como sistema tampão quando diminuem a produção de ATP através da conversão de dois ADPs em um ATP e um AMP (adenosina monofosfato). Esta conversão ajuda na manutenção da razão viável de ATP/ADP à medida que a produção de ATP diminui. No entanto, a acumulação de AMP activa a proteína quinase, cuja activação é dependente de uma proteína supressora tumoral LKB1 (proteína supressora tumoral quinase do fígado B1 ou, do inglês, *Liver Kinase B1*) que conduz à fosforilação de alguns alvos para aumentar a carga de energia nas células.[69]

Apesar da glicólise aeróbia poder, em virtude da sua estequiometria, ser necessária para suportar elevadas taxas de glicólise, as vantagens que este processo traz às células tumorais, são difíceis de entender. Os efeitos da secreção autónoma de lactato pelas células tumorais podem, certamente, conferir vantagens aos próprios tumores. O lactato pode aumentar a capacidade de invasão das células tumorais, através da disrupção da arquitectura dos tecidos normais, bem como promover um ambiente com pH reduzido para evasão a células imunitárias, que têm como alvo as células tumorais. Uma teoria complementar, sugere que a manutenção de elevadas taxas de glicólise é necessária para reconfigurar os fluxos das vias metabólicas, de modo a alcançar um metabolismo anabólico e um crescimento independente das células.[304] Outra explicação hipotética para a alteração do metabolismo para glicólise aeróbia relaciona-se com o facto de as células proliferativas possuírem requisitos metabólicos que vão para além do ATP.[69] As células cancerígenas têm o seu crescimento limitado pela disponibilidade de carbono, necessário à produção de novas proteínas, nucleótidos e lípidos. Para além disso, os equivalentes redutores na

forma de NADPH necessários para a biossíntese redutora, derivam de vias alternativas às vias de geração de ATP. Múltiplas soluções avançadas para o problema da obtenção de quantidades suficientes de material de carbono e de equivalentes redutores, sugerem a depedência do tumor e do seu microambiente, no contexto genético.[69,304] As vias metabólicas activas em células em proliferação são directamente controladas por vias de sinalização, que envolvem oncogenes conhecidos e genes supressores tumorais e encontram-se intrinsecamente ligadas, de acordo com o representado na figura 29. Esta interligação metabólica permite a criação de um fluxo de NADPH e acetil-CoA (acetilcoenzima A) para o citosol, destinado à síntese lipídica, nucleotídica e de aminoácidos. Contudo, para uma célula proliferar, a maior parte da glicose não pode ser comprometida com o catabolismo de carbono para a produção de ATP.[69] Passos chave destas vias metabólicas podem ser influenciados por vias de sinalização conhecidas por serem importantes para a proliferação celular. A activação de receptores de factores de crescimento conduz à sinalização de tirosina quinase e à activação de PI3K (fosfatidilinositol-3-quinase ou, do inglês, *phosphoinositide-3-kinase*). Através da via AKT (genes da família Akt, também conhecidos por proteína quinase B ou PKB), a activação do PI3K estimula a captação e fluxo de glicose que ocorre ao longo da etapa inicial da glicólise. A sinalização da tirosina quinase regula negativamente o fluxo nas etapas finais da glicólise, tornando disponíveis os intermediários glicolíticos para a síntese de macromoléculas e, ainda, suportando a produção de NADPH. O C-MYC orienta o metabolismo de glutamina, que também suporta a produção de NADPH. A sinalização de LKB1/AMPK (proteína quinase adenosina monofosfato activada ou, do inglês, *Adenosine Monophosphate-activated Protein Kinase*) e de P53 provoca a diminuição do fluxo metabólico através da glicólise, em resposta ao stress celular. A diminuição do fluxo glicolítico em resposta a LKB/AMPK ou P53 pode constituir uma resposta adaptativa para desligar o metabolismo proliferativo em períodos de disponibilidade reduzida de recursos energéticos ou de stress oxidativo.[69,306]

Para a maioria das células as únicas moléculas catabolizadas em quantidades apreciáveis são a glicose e a glutamina, o que significa que são estas moléculas que fornecem a maioria dos carbonos, nitrogénios e energia livre e que reduzem os equivalentes necessários para suportar o crescimento e a divisão celular. De acordo com as diferentes características biológicas da transformação maligna, a reprogramação da actividade metabólica é necessária para suportar o crescimento celular desregulado. A energia e a biomassa necessárias para o crescimento celular são compensadas pelo aumento do consumo de nutrientes, como a glicose e a glutamina, assimilados avidamente pelas células. A glicólise fornece energia e algumas moléculas precursoras, que conduzem à biossíntese de nucleótidos, fosfolípidos para novas membranas e outros componentes necessários à divisão celular. A glutamina constitui o maior substrato para a respiração, assim como o nitrogénio para a produção de proteínas, hexosaminas, e macromoléculas.[305] Nesta perspectiva, a conversão da totalidade da glicose em dióxido de

carbono pela via da OXPHOS na mitocôndria, vai de encontro às necessidades de maximização da produção de ATP de uma célula em proliferação.[69] Este facto pode explicar parte da vantagem selectiva fornecida pelo efeito de *Warburg* em que as células convertem glicose e glutamina em lactato e alanina. No entanto, a maioria destes produtos é excretada da célula como resíduos. O produto final do lactato e da alanina é a produção robusta de NADPH.[69]

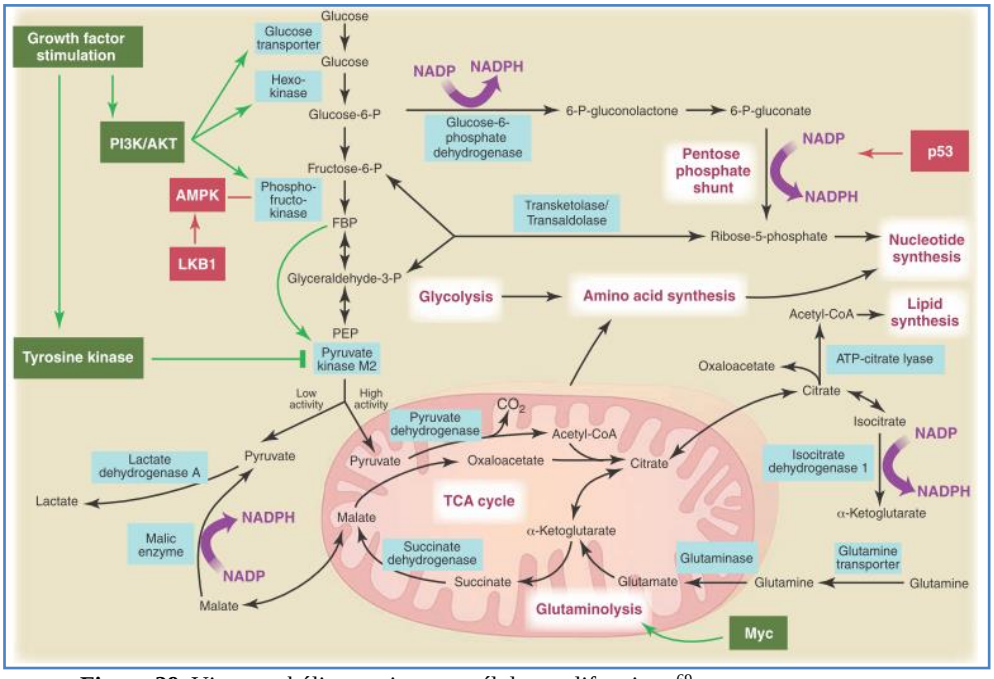


Figura 29. Vias metabólicas activas em células proliferativas.[69]

Dado que a glicólise aeróbia pode resultar na acumulação de lactato nas células cancerígenas, devido à presença de elevados níveis de lactato desidrogenase, que interfere na conversão de piruvato a lactato, esta enzima pode ser importante no crescimento celular em ambiente hipóxico, ao permitir um aumento da glicólise anaeróbia.[307] Células e tecidos malignos da mama demonstram actividade enzimática envolvida na glicólise, actividade que, no caso da hexoquinase e de outras enzimas glicolíticas, parece ser ainda maior nas metástases do que nos tumores mamários primitivos, sugerindo uma associação entre glicólise e progressão tumoral.[308–312] De acordo com *Warburg*, a agressividade de um tumor deriva da elevação do modo glicolítico de processamento de energia. Essa elevação é considerada o resultado de uma competição entre células que utilizam o metabolismo glicolítico e células que adoptam a OXPHOS. A glicólise em condições aeróbias demonstra ser particularmente elevada em tumores agressivos, quando comparada com tumores benignos ou tecidos normais.[313]

A maioria das células cancerígenas apresenta glicólise aumentada. Contudo, a contribuição relativa da glicólise para o fornecimento de ATP varia consideravelmente consoante o tecido. A dependência da contribuição glicolítica em diferentes tipos tumorais, encontra-se ilustrada na tabela 5.

Tabela 5. Metabolismo energético predominante em diferentes tipos de células cancerígenas: [313,314]

Tipo de Tumor	Tipo de Célula	Metabolismo Energético Predominante
Cerebral	Glioma	Glicólise
Ósseo	Sarcoma	OXPHOS
Cólon	Adenocarcinoma do Cólon	Glicólise
Pulmonar	Carcinoma do Pulmão	OXPHOS
Pele	Melanoma	OXPHOS

Nos seres humanos, a glicólise aeróbia é extremamente importante em células como neurónios, células da retina, células estaminais e germinativas. Os neurónios, por exemplo, dependem absolutamente da glicose como fonte energética e não funcionam em condições anaeróbias. Uma vez que estas células não apresentam o fenótipo do cancro, torna-se evidente que a glicólise não constitui condição suficiente para carcinogénese. Para além disso, não se observa elevação do metabolismo glicolítico em todas as fases da carcinogénese.[313]

4.3 ^{18}F-FDG e Metabolismo Glicolítico

O notável sucesso da utilização da PET com ^{18}F-FDG na avaliação de doentes com doença oncológica prende-se com a constatação (inesperada) de que a esmagadora maioria de tumores malignos demonstra taxas marcadamente elevadas de consumo de glicose. Esta observação estimulou o interesse em torno do metabolismo alterado de glicose que se observa nas células cancerígenas. Na realidade, a ^{18}F-FDG não foi desenvolvida para detecção e estadiamento de cancro, mas para estudos cerebrais e miocárdicos do metabolismo de glicose.[315] Apesar da indicação original para esta técnica, em muitos tipos de tumores malignos a sensibilidade e especificidade da PET com ^{18}F-FDG na identificação de lesões primárias e metastáticas chega a ser de aproximadamente 90%. Assim, no panorama clínico, a captação de glicose pelas células tumorais pode ser visualizada *in vivo* na grande maioria dos tumores, através da utilização de análogos da glicose marcados por traçadores radioactivos, como é o caso da ^{18}F-FDG. O princípio

por detrás desse procedimento é de que a ^{18}F-FDG administrada por via endovenosa irá sofrer sobre-acumulação nas células tumorais relativamente aos tecidos normais circundantes, tornando os tumores visualizavéis por sistemas PET de aquisição de imagem. Parece existir evidência de que maior captação de glicose em tumores detectáveis pela PET é representativa de tumores metabolicamente mais activos e, portanto, mais agressivos.[316] Outros estudos têm vindo a confirmar, nomeadamente no caso do cancro da mama, que elevado conteúdo de ^{18}F-FDG se correlaciona com maior grau de indiferenciação tumoral e que pode ser preditivo de maior potencial metastático, reduzida resposta à terapêutica e prognóstico desfavorável.[317] Os estudos PET são também utilizados para avaliar o grau de disseminação tumoral, o que indica que as metástases tendem, também, a apresentar captação aumentada de ^{18}F-FDG.[318–321]

Como molécula sintética análoga da glicose, a ^{18}F-FDG utiliza os mesmos mecanismos de entrada na célula. As duas moléculas encontram-se representadas na figura 30.

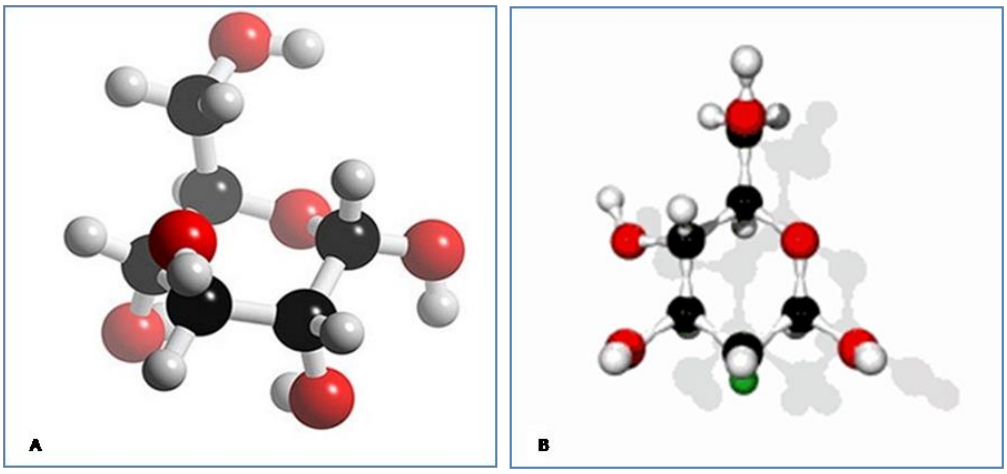


Figura 30. (A) Modelo de uma molécula de glicose. **(B)** Modelo da molécula de [18]Flúor-fluoro-2-deoxi-glicose. Representados a vermelho os átomos de oxigénio; a preto, os átomos de carbono; a branco, os átomos de hidrogénio; a verde, os átomos de ^{18}Flúor. [322,323]

Após administração endovenosa, a cinética da ^{18}F-FDG no compartimento vascular é biexponencial. Apresenta uma semi-vida de distribuição de 1 minuto e uma semi-vida de eliminação de aproximadamente 12 minutos.[324] Ao contrário da glicose, a ^{18}F-FDG não constitui um substrato para os transportadores de glicose dependentes de sódio que estão presentes no sistema tubular renal. Consequentemente, não é reabsorvida após a filtração glomerular, mas excretada na urina, o que contribui para uma rápida libertação de ^{18}F-FDG do fluxo sanguíneo, importante para a geração de imagens de elevado contraste de tecidos metabolicamente activos,

nomeadamente tecidos tumorais. No interior da célula, ambas as moléculas de glicose e de ^{18}F-FDG são fosforiladas pela hexoquinase, respectivamente a glicose-6-fosfato e ^{18}F-FDG-6-fosfato. A glicose-6-fosfato é ainda metabolizada a frutose-1,6-bifosfato e entra na glicólise ou, alternativamente, entra na via das pentoses-fosfato e é convertida em ribose-5-fosfato, que pode servir como substracto na síntese de DNA ou RNA (ácido ribonucleico ou, do inglês, *Ribonucleic Acid*). Em contrapartida, a FDG-6-fosfato não pode ser metabolizada na via glicolítica, uma vez que o átomo de flúor na posição C2 impede maior degradação da molécula. Além disso, as células tumorais demonstram geralmente actividade reduzida ou mesmo ausente de glicose-6-fosfato e de FDG-6-fosfato. Uma vez que a membrana celular é impermeável à passagem de ^{18}F-FDG fosforilada e sendo lenta a desfosforilação promovida pelas fosfatases intracelulares, a FDG-6-fosfato fica retida de modo virtualmente estável no interior da célula tumoral metabolicamente activa (mecanismo de aprisionamento) durante várias horas. A totalidade do processo de acumulação intra-celular de ^{18}F-FDG encontra-se representada na figura 31.[1,3,315,324,325] Na realidade, a reacção de fosforilação a deoxifrutose-6-fosfato consiste num rearranjo do grupo carbonilo da posição C1 para C2 na estrutura em anel que não é exequível, uma vez que iria requerer a presença de um átomo de oxigénio na posição C2. Deste modo, a deoxiglucose-6-fosfato permanece retida no interior da célula, dada a impossibilidade de ocorrência da reacção inversa devido aos reduzidos níveis de concentração de glicose-6-fosfatase que se encontram no citosol.[326]

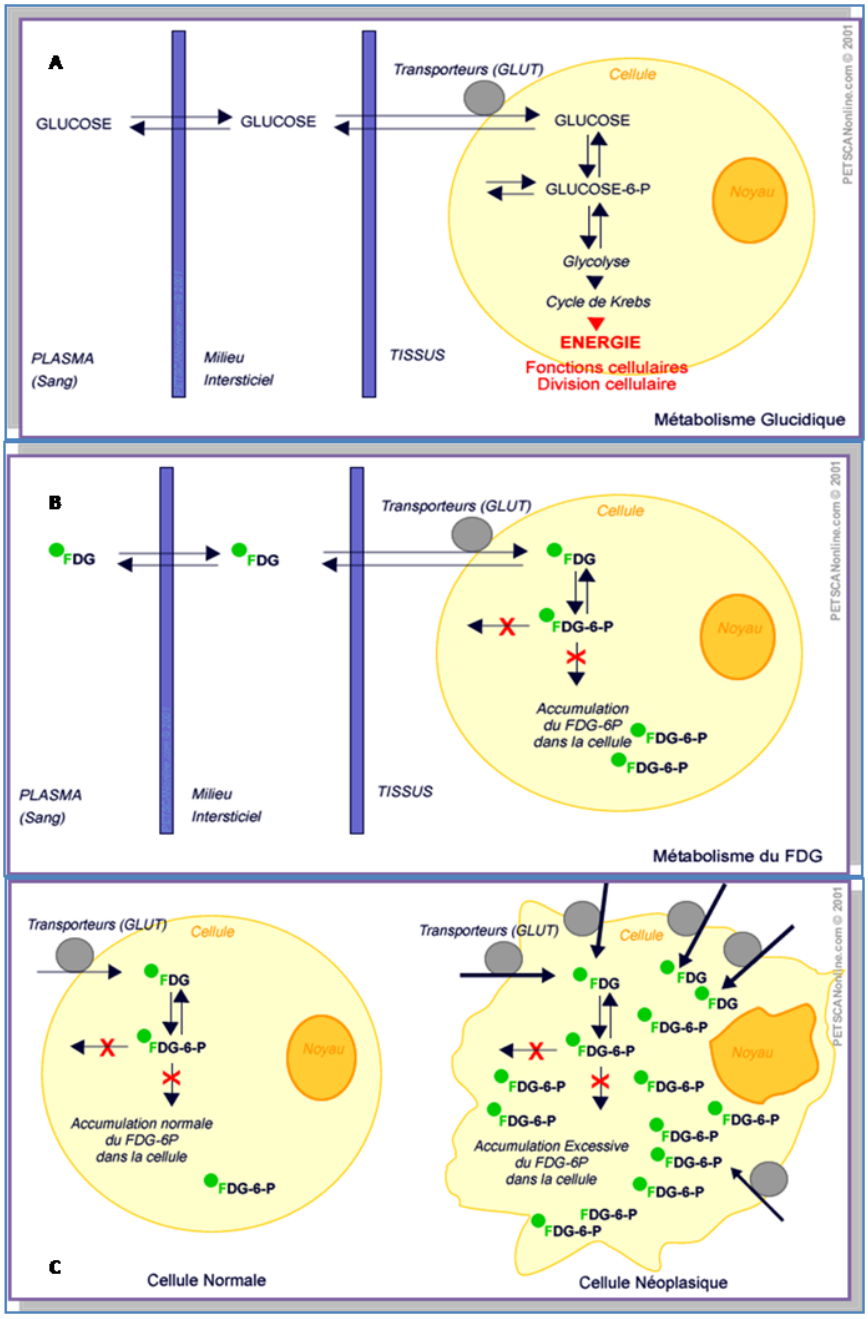


Figura 31. (A) Metabolismo celular da glicose em células normais. **(B)** Metabolismo celular da ^{18}F-FDG em células normais. **(C)** Metabolismo celular da ^{18}F-FDG em células normais *versus* células neoplásicas.[327]

A PET constitui uma modalidade imagiológica sofisticada que permite aceder na prática clínica a alterações funcionais, não necessariamente tumorais, uma vez que a captação de ^{18}F-FDG não é específica das células malignas.[326] Foi também demonstrada a sua acumulação em áreas de infecção e inflamação e, para além disso, existem vários outros tecidos que exibem elevado metabolismo glicolítico, que incluem os tecidos cardíaco e cerebral.[324,328–330] Nos tecidos musculares, o consumo de glicose (e consequentemente de ^{18}F-FDG) pode ser também elevado,

motivo pelo qual é recomendado repouso como preparação para o estudo PET.[331] A captação de ^{18}F-FDG é reduzida perante a ingestão de alimentos, com subsequente hiper-insulinémia, que é responsável por uma diminuição da expressão de transportadores de membrana das células musculares. Tecidos que apresentam uma captação de ^{18}F-FDG relativamente baixa são o fígado e o intestino que, por outro lado, apresentam níveis elevados de glicose-6-fosfatase.[326,330] A figura 32 mostra os locais de acumulação/biodistribuição normal de ^{18}F-FDG.

Figura 32. Projecção de máxima intensidade (MIP) de imagem de corpo inteiro gerada num estudo PET. Imagem demonstra distribuição normal de ^{18}F-FDG ao nível do cérebro, glândulas salivares submandibulares, miocárdio, fígado, intestino e tracto urinário.[332]

A hiperacumulação intra-celular de ^{18}F-FDG-6-fosfato permite, através da utilização de equipamentos PET, identificar nas imagens funcionais as células cancerígenas e a quantificação da actividade metabólica através do cálculo da captação de ^{18}F-FDG, utilizando para o efeito a determinação dos SUVs (*standardized uptake values*). Os SUV são valores normalizados de captação de ^{18}F-FDG (fracção da actividade injectada por unidade de massa) e representam a concentração de actividade no tecido tumoral num instante fixo no tempo. O conceito básico subjacente à utilização dos SUVs é que a aquisição de imagem num período de tempo suficiente após a administração, permite que as concentrações de ^{18}F-FDG não fosforilada, intravascular e

intracelular, se tornem tão reduzidas que possam ser negligenciadas, quando comparadas com a concentração de ^{18}F-FDG fosforilada, acumulada nos tecidos tumorais. Neste caso, pode considerar-se que a taxa de fosforilação de ^{18}F-FDG é directamente proporcional ao SUV.[315,333]

Apesar de se assumir que os elevados níveis de captação de ^{18}F-FDG pelos tumores reflectem predominantemente um aumento da captação de glicose, a actividade enzimática envolvida no metabolismo glicolítico pode também influenciar o conteúdo celular de ^{18}F-FDG captado na imagem. Têm vindo a ser relatadas em alguns tumores, actividades aumentadas de hexoquinase, responsável pela fosforilação de glicose e actividades reduzidas de glicose-6-fosfatase que desfosforila a glicose-6-fosfato.[334,335] Estas alterações da actividade enzimática resultam na acumulação de ^{18}F-FDG fosforilada em células cancerígenas, independentemente da captação de glicose, uma vez que o ^{18}F-FDG-6-fosfato não prossegue, para além deste estado, na via glicolítica, nem consegue mover-se através da membrana celular. Estudos dirigidos à importância relativa destes factores, tendem a favorecer a expressão dos transportadores de glicose em detrimento da actividade enzimática como factor primordial de captação de ^{18}F-FDG.[336–338] Contudo, é bastante provável que alterações nas actividades de fosforilação contribuam igualmente para a acumulação do radiofármaco nos tumores.[339]

4.4 Transportadores de Membrana e Metabolismo Glicolítico

A maioria das células constituintes dos organismos mamíferos depende de um fornecimento contínuo de glicose, importante fonte energética e substrato para a síntese proteica e lipídica, como precursor de glicoproteínas, triglicéridos e glicogénio. Como fonte de energia, a glicose permite a geração de ATP através da glicólise e do ciclo do ácido cítrico e possui poder redutor quando se apresenta sob a forma de NADPH através do *shunt* pentose/fosfato. Nos animais lactantes, uma grande proporção de glicose sanguínea é utilizada na síntese da lactose, o mais importante açúcar presente no leite na glândula mamária. A glicose é um composto hidrofílico, pelo que não é capaz de atravessar a bicamada lipídica da membrana plasmática por difusão simples, requerendo a presença de transportadores específicos para mediar esse transporte particular para o citosol.[301,340] A presença de proteínas transportadoras na membrana plasmática encontra-se ilustrada na figura 33. Nos mamíferos, e uma vez que os níveis de glicose sanguínea são mantidos dentro de um intervalo muito restrito por mecanismos homeostáticos, a maioria das células capta glicose a partir do fluido intersticial por um processo de transporte passivo, facilitado por proteínas de membrana, orientado a favor de um gradiente de concentração, através da membrana plasmática.[340,341] Nas células epiteliais polarizadas do lúmen do intestino delgado e dos túbulos renais proximais existe um co-transportador Na^+/glicose dependente de energia. Esta

é a única proteína que utiliza o movimento de Na^+ exclusivamente contra o gradiente electroquímico para dirigir a captação de glicose pelas células.[301]

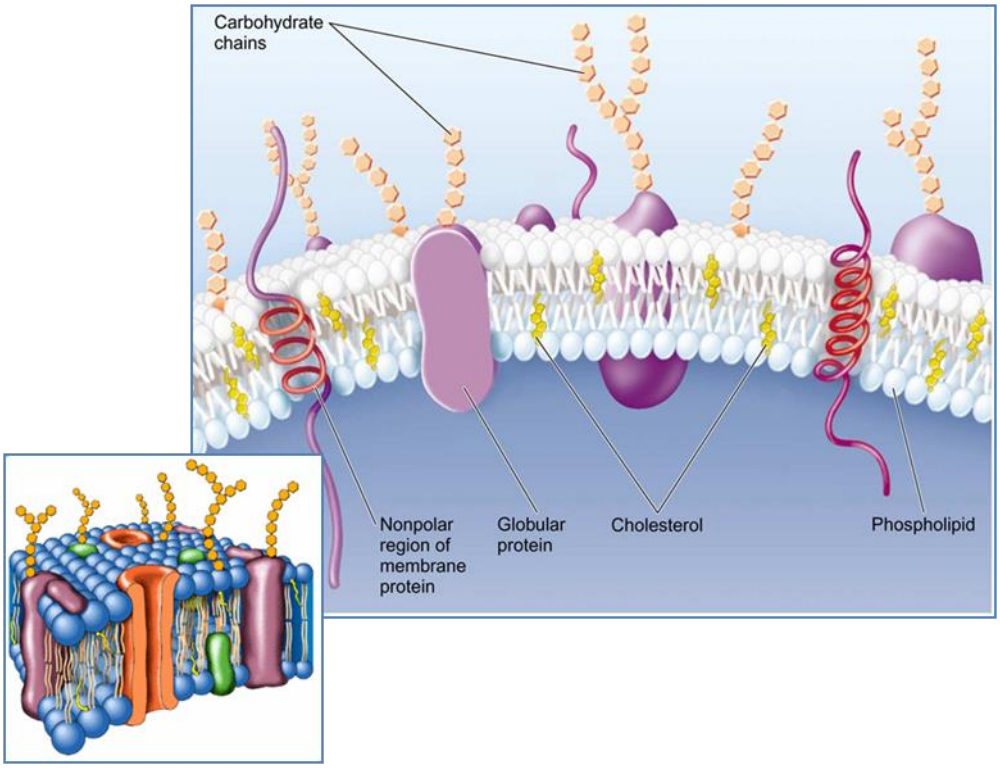


Figura 33. Constituintes da membrana celular.[342,343]

A difusão facilitada é mediada pela família dos transportadores de membrana (símbolo do gene, SLC2A e símbolo proteico GLUT). Todas as células mamíferas contêm um ou mais genes membros da família de transporte facilitado de glicose. Estes transportadores têm um elevado grau de estereoselectividade, fornecendo transporte bidireccional ao substrato, com difusão passiva a favor do gradiente de concentração. A função dos GLUTs é regular o movimento de glicose entre os compartimentos intra e extracelular, mantendo um aporte constante da glicose disponível para metabolismo.[340,341]

Os GLUTs são proteínas de membrana intrínsecas, que diferem na expressão específica consoante o tecido, ou seja, cada isoforma apresenta uma distribuição de acordo com o tecido em que se encontra e pode encontrar-se expressa mais do que uma isoforma no mesmo tecido, ao mesmo tempo ou em períodos diferentes. Estas proteínas respondem a regulação hormonal e metabólica.[294,344,345] Foram identificados treze membros da família de transportadores específicos de membrana (GLUTs 1-12 e HMIT (transportador de glicose da família dos GLUTs ou, do inglês, *H^+ coupled Myo-Inositol Transporter*)), mais quatro pseudogenes. Amplos estudos

genómicos do *GenBank* (banco de dados de livre acesso que contém uma colecção de todas as sequências de nucleótidos publicamente disponíveis e das respectivas proteínas traduzidas. Foi criado e é mantido pelo NCBI (do inglês, *National Center for Biotechnology Information*)) indicam que este conjunto deverá representar a totalidade dos membros da família de transporte facilitado.[301,346,347] As propriedades cinéticas conhecidas, locais preferenciais de expressão e função proposta destes transportadores em tecidos humanos, encontram-se sumarizadas na tabela 6.[340]

Tabela 6. Propriedades dos membros da família de transporte facilitado da glicose e de co-transporte de Na^+/glicose:[340]

Transporte Facilitado de Glicose (GLUT)				
Proteína	**Tamanho da Isoforma (n.º a.a.)**	**K_m (mM)**	**Principais Locais de Expressão**	**Função Proposta**
GLUT-1	492	3-7	Distribuição ubíqua em tecidos e células em cultura	Captação basal de glicose; transporte através de barreiras sanguíneas
GLUT-2	524	17	Fígado, ilhéus de Langerhans, rins e intestino delgado	Transporte de elevada capacidade e baixa afinidade
GLUT-3	496	1,4	Células cerebrais e nervosas	Transporte neuronal
GLUT-4	509	6,6	Músculo, tecido adiposo e coração	Transporte regulado por insulina (tecidos muscular e adiposo)
GLUT-5	501		Intestino, rins e testículos	Transporte de frutose
GLUT-6	507	?	Baço, leucócitos e cérebro	
GLUT-7	524	0,3	Intestino delgado, cólon e testículos	Transporte de frutose
GLUT-8	477	2	Testículos, blastócitos, cérebro, músculo e adipócitos	Combustível de espermatozóides maduros; transporte sensível a insulina nos blastócitos
GLUT-9	511/540	?	Fígado e rins	
GLUT-10	541	0,3	Fígado e pâncreas	
GLUT-11	496	?	Coração, músculo	Específica do músculo; transporte de frutose

GLUT-12	617	?	Coração, próstata e glândula mamária	
HMIT	618/629	?	Cérebro	Co-transportador H^+/mio-inositol
Co-Transportadores Na^+/Glicose (SGLT)				
SGLT-1	664	0,2	Rins e intestino	Reabsorção de glicose nos rins e intestino
SGLT-2	672	10	Rins	Baixa afinidade e elevada selectividade para a glicose
SGLT-3	660	2	Intestino delgado e músculo-esquelético	Canal Na^+ activado por glicose

As diferentes isoformas conhecidas, parecem partilhar uma topologia transmembranar comum, apresentando um grande domínio transmembranar (50% de massa proteica), altamente conservado (97%), com domínios grosseiramente assimétricos, não membranares, citoplasmáticos e exoplasmáticos. O domínio transmembranar é composto por doze hélices-α que abrangem a membrana, contendo uma via cheia de água, através da qual passa o substrato.[348,349] Este arranjo sugere que a proteína atravessa a membrana plasmática doze vezes. O domínio citoplasmático contém um curto segmento NH_2^- (grupo amina) terminal, um grande nó citosólico entre os domínios transmembranares (TM) 6 e 7 e um segmento $COOH^-$ (grupo carboxílico) terminal, representados na figura 34. O domínio exoplasmático contém um nó que engloba um terminal N- ligado a metade de um oligossacarídeo. Verifica-se a existência de um elevado grau de homologia entre as proteínas GLUT, nomeadamente ao nível das hélices transmembranares, enquanto os terminais NH_2^- e $COOH^-$ e as sequências de nós são variáveis. O facto de existirem sequências de aminoácidos específicas das isoformas nos domínios cito e exoplasmáticos, indica que estes são responsáveis pela regulação específica do tecido. Cada isoforma detém um papel específico na captação de glicose e na homeostasia glicolítica.[301,339,340] Os aminoácidos que se mantêm de uma proteína para outra, desempenham importantes papéis nas ligações aos substratos e/ou na mudança conformacional que ocorre no processo de transporte. A presença de forte analogia interproteica, sugere que esta família deriva de um gene ancestral comum. Já o facto de a estrutura primária do domínio transmembranar ser altamente conservada entre isoformas, sugere que os canais de glicose são basicamente idênticos, em termos estruturais, entre os membros desta família.[340]

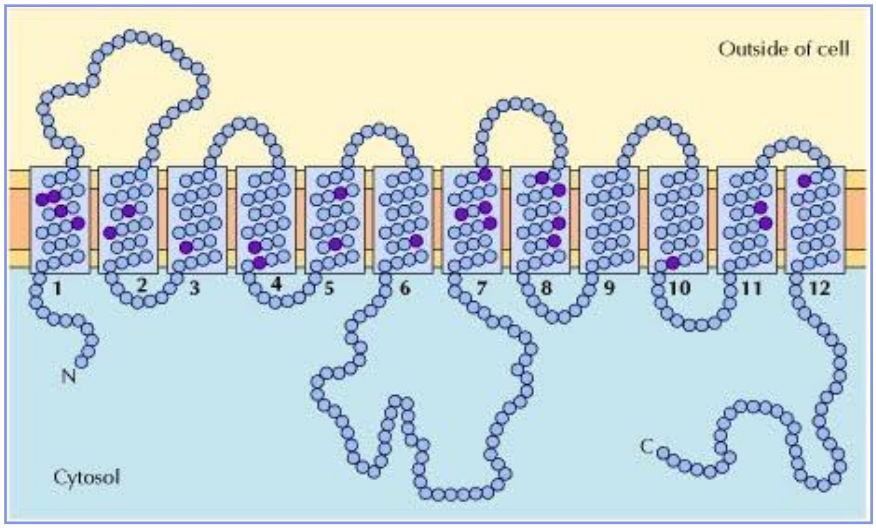


Figura 34. Estrutura dos transportadores GLUT-4.[350]

Com base na análise filogenética das semelhanças sequenciais, a família dos GLUTs pode ser dividida em três classes: a classe I inclui os GLUT 1-4, que apresentam uma afinidade de 48-63% nos humanos; a classe II compreende os GLUT-5, 7, 9 e 11 (semelhantes em 36-40%), que apresentam conformidade pelo transporte de frutose e que, estruturalmente, não apresentam resíduos de triptofano; e a classe III, composta pelos GLUTs 6, 8, 10, 12 e HMIT que, apesar de apresentarem similaridades de apenas 19-41%, partilham a característica estrutural da presença de uma grande ansa na posição número 9, contendo o local de glicosilação, enquanto as restantes classes apresentam o seu local de glicosilação na ansa extracelular da posição número 1.[326,339,340]

4.4.1 Transportadores GLUT Envolvidos no Cancro da Mama

A localização, expressão e regulação da família de GLUTs é específica do tecido e, frequentemente, das células. Nas células cancerígenas, que não se encontram disciplinadas pelas mesmas regras de regulação apertada das células normais, uma expressão aberrante dos membros da família de GLUTs garante o fornecimento da fonte de energia necessária ao subsequente crescimento desregulado e disseminação. Uma vez que todas as células contêm os genes correspondentes a cada isoforma GLUT, genes esses que são regulados de forma distinta, observa-se nas células cancerígenas a expressão de certas isoformas que, em condições normais, não estariam expressas no tecido normal.[301,340]

A isoforma GLUT-1 pode ser encontrada numa grande variedade de tecidos e células normais humanas, sendo a forma proteica desta família distribuída de modo mais ubíquo. Encontra-se particularmente presente, em níveis elevados, nas barreiras endotelial e semelhante a epitelial do cérebro, olho, nervo periférico, placenta, e glândula mamária lactante.[351,352,353,354] Para

além da glicose, a isoforma GLUT-1 é também implicada no transporte de galactose e manose, sendo que actua de forma assimétrica, isto é, a afinidade para o influxo de açúcar é cerca de 10 vezes superior à de efluxo.[355] Actua de forma cooperativa com outras isoformas, o que é evidente pela sua interacção com a GLUT-4 nos tecidos sensíveis a insulina, tecido adiposo e tecido muscular. Nestes tecidos, a isoforma GLUT-1 localiza-se na membrana plasmática e a GLUT-4 distribui-se no compartimento intracelular no estado basal. Em resposta à sinalização pela insulina, a GLUT-4 é translocada para a membrana celular.[301,356] A sobrexpressão de GLUT-1 é particularmente envolvida em muitos tecidos e células cancerígenas, incluindo carcinoma do pâncreas, colo do útero, esófago, pulmão, fígado, glândula tiroideia, ovário, hemangiomas juvenis, estômago, próstata e mama. [301,356] No caso específico do cancro da mama, foi encontrada correlação entre a expressão de GLUT-1 e uma grande variedade de características tumorais, nomeadamente alto grau, actividade proliferativa, metastização e mau prognóstico relativo.[301,336,357–362]

Relativamente à expressão de GLUTs 2-5 no cancro da mama, é frequentemente referida a sobrexpressão de GLUT-4. Esta forma proteica é quase inteiramente responsável pelo transporte de glicose estimulado pela insulina, sendo constantemente reciclada entre a membrana plasmática e um *pool* de armazenamento intracelular. Sob estímulo da insulina, que ocorre sobretudo em circunstâncias de hiperglicémia como no período pós-prandial, a proteína sofre uma rápida translocação das vesículas intracelulares em que se encontra sequestrada para a membrana da célula, com um aumento dramático (até cerca de 30 vezes mais) da actividade celular de transporte de glicose, mecanismo que se encontra representado na figura 35. Quando é desviado o estímulo causado pela insulina, as proteínas são retiradas da membrana plasmática por endocitose e de novo recicladas para o seu compartimento intracelular de armazenamento.[363–371] O transporte de glicose mediado por GLUT-4 nos tecidos muscular e adiposo, desempenha um papel limitativo na utilização de glicose.[372,373] A actividade debilitada de funcionamento de GLUT-4 é, em parte, responsável pela resistência à insulina na diabetes humana e na obesidade.[374–380] É o processo de estimulação da expressão de GLUTs e sua translocação nos tecidos adiposo e muscular pela insulina que promove a regulação da homeostasia da glicose no organismo e que, quando disfuncional, desempenha um papel vital na *diabetes mellitus.*[381–386] No cancro da mama, não foi ainda estabelecida uma relação entre a expressão desta isoforma e metastização e/ou prognóstico da doença.[359]

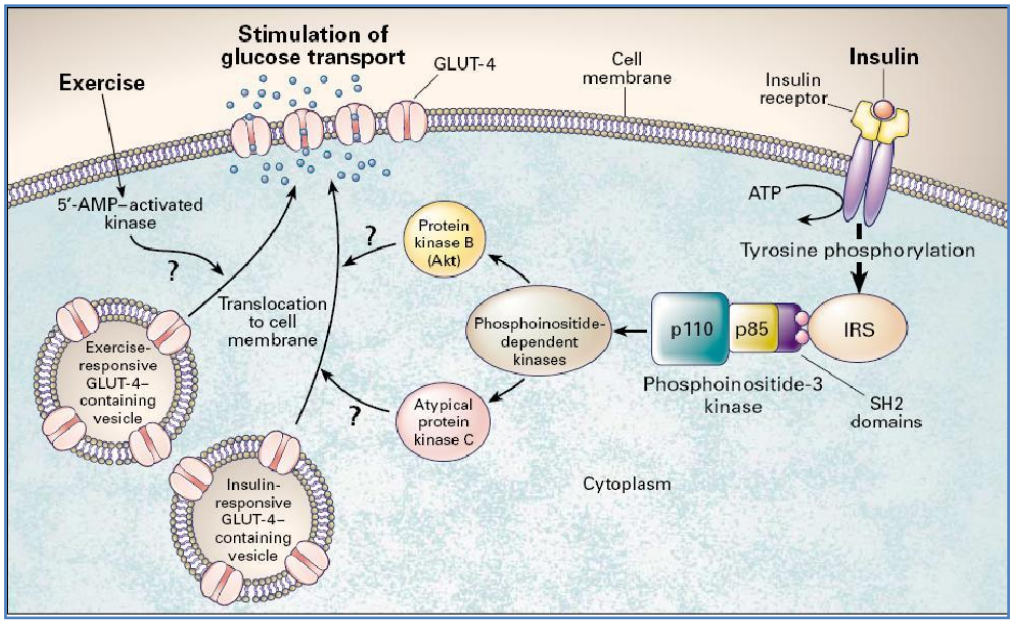


Figura 35. Mecanismo de translocação de GLUT-4 de vesículas localizadas no espaço intracelular para a membrana plasmática, sob estímulo da insulina.[387]

Com fisiologia contrastante, a isoforma 5 dos transportadores de glicose, aparenta não exibir actividade relativa ao transporte de glicose mediando, no entanto, o transporte de frutose. Parece haver alguma evidência de que a glicose é um inibidor competitivo da captação de frutose pela GLUT-5. Nos seres humanos, esta proteína é sobretudo expressa na região do jejuno do intestino delgado e em níveis renais inferiores.[388–393] Foi relatada a expressão de GLUT-5 em células mamárias malignas, mas não em células mamárias normais, ou seja, em condições normais esta isoforma não é expressa nos tecidos mamários.[394]

Em tumores da mama, foi, também, observada sobrexpressão de GLUT-12.[394–398] Esta proteína foi originalmente clonada da linha celular humana de cancro da mama, MCF-7 (do inglês, *Michigan Cancer Foundation* – 7). Esta linha celular de adenocarcinoma da mama humano dependente de estrogénio foi isolada naquela instituição em 1970. A sua designação constitui uma referência ao instituto em Detroit onde foi estabelecida por *Herbert Soule* e companheiros de trabalho. A sua expressão revelou ser mais forte em células de carcinoma ductal *in situ* do que em ductos benignos de tecidos mamários, indicando uma possível intervenção na captação de glicose pelos tecidos de cancro da mama.[395,399] Apresenta características semelhantes à GLUT-4 e, em algumas células, a isoforma 12 demonstra maior afinidade pela glicose do que por outras hexoses.[399,400] Em tecidos adultos normais a sua expressão parece estar restrita a locais sensíveis a insulina como tecido músculo-esquelético, coração e tecido adiposo sendo, como tal, postulada como novo transportador de glicose sensível à insulina.[399] Expressa em tecidos com elevada taxa de utilização de glicose, esta proteína pode ser considerada um exemplo de reactivação de um

gene que se encontra expresso no embrião e normalmente sub-regulado na maioria dos tecidos adultos.[395,399,401–403]

4.5 Mecanismos Moleculares Reguladores da Glicólise e dos Transportadores de Membrana

Podem ser consideradas quatro vias essenciais de sinalização envolvidas na translocação de GLUTs para a membrana celular e na regulação da glicólise: hormonal, transcripcional, por insulina e por isquémia/hipóxia.

Em termos do mecanismo de acção hormonal, a função das diferentes hormonas é controlar os níveis de actividade dos tecidos alvos, alterando as reacções químicas intracelulares, a permeabilidade da membrana celular a substâncias específicas, ou activando outros mecanismos celulares específicos. As diferentes hormonas atingem estes efeitos de diversas formas. No entanto, podem ser salientados dois importantes mecanismos gerais segundo os quais muitas das hormonas funcionam: (1) activação do sistema cAMP (adenosina 3',5'-monofosfato cíclico ou AMP cíclico) celular que, por sua vez, activa funções celulares específicas; (2) activação do DNA celular, originando a formação de proteínas intracelulares que iniciam funções celulares específicas. As hormonas esteróides, por exemplo, actuam segundo este mecanismo.

Um dos principais meios de actuação hormonal assenta na indução da síntese proteica nas células alvo, mecanismo de acção das hormonas esteróides secretadas pelo córtex supra-renal (cortisol e aldosterona), pelo ovário e placenta (estrogénio e progesterona) e pelos testículos (testosterona). As proteínas assim formadas são, normalmente, enzimas que, por sua vez, activam outras funções celulares. Em termos gerais, podem considerar-se várias fases no mecanismo de acção hormonal em que intervêm as hormonas esteróides: (1) a hormona esteróide entra na célula e liga-se a uma proteína receptora específica presente no citoplasma (receptor intra-citoplasmático); (2) o complexo hormona/proteína atravessa o citoplasma e atinge o núcleo; (3) ao longo do trajecto até ao núcleo, a proteína receptora é alterada (menor peso molecular); (4) o complexo hormona/proteína activa um factor que acciona os genes específicos para formar mRNA (RNA mensageiro ou, do inglês, *messenger Ribonucleic Acid*); (5) o mRNA inicia a tradução nos ribossomas, conduzindo à formação de novas proteínas.[404]

A regulação hormonal da expressão de transportadores específicos de membrana ocorre, em algum grau, por quase todas as hormonas conhecidas. Ligandos de receptores hormonais nucleares como testosterona, glucocorticóides, ácido retinóico e hormonas tiroideias demonstraram promover a alteração da expressão de GLUTs, expressão proteica que pode também ser mediada pela prolactina, hormona folículo-estimulante (FSH), noradrenalina e vasopressina (hormona anti-diurética ou ADH).[405–411] No âmbito do presente trabalho, é

particularmente relevante a regulação da expressão de GLUTs que ocorre por intermédio das hormonas esteróides femininas, estrogénio e progesterona. Na figura 36 encontra-se esquematizada a produção intratumoral e metabolismo de estrogénio no cancro da mama. As hormonas esteróides são compostos lipossolúveis com uma estrutura química análoga à do colesterol, composto do qual derivam na sua grande maioria. Na realidade, parecem existir evidências de dimorfismo sexual no metabolismo glicolítico. Alguns estudos evidenciam que o papel desempenhado pelas hormonas sexuais é aparente durante o desenvolvimento fetal de ratos, durante o qual os machos demonstram maturação pulmonar retardada. Especula-se que esse atraso seja, em parte, devido a um predomínio de estrogénio durante o desenvolvimento de ratos fêmeas, que provoca um aumento da expressão de GLUT-1 e, consequentemente, um aumento no transporte de glicose nos pulmões das fêmeas, relativamente ao dos machos.[412] Outros estudos demonstram que a captação de glicose é alterada na ausência de estrogénio ou na presença de progesterona, sugerindo que o estrogénio provoca um aumento da actividade metabólica e que este processo acaba por ser regulado pelo equilíbrio entre estrogénio e progesterona. Contudo, não foi ainda alcançado consenso em torno da discussão, sendo reconhecida uma complexa interacção entre diversas vias de sinalização, que pode produzir respostas diversas à presença de hormonas esteróides no mesmo tecido ou linha celular. Por exemplo, quer a presença, quer a ausência de activação do estímulo de IGF ou da própria insulina pode ser diferente em determinado instante, podendo observar-se resultados paradoxais dos tecidos envolvidos na resposta às hormonas esteróides, demonstrando uma ligação cruzada com outros factores de crescimento que regulam de forma distinta os membros da família GLUT.[413]

As hormonas podem apresentar outros efeitos directos sobre as células, embora, em alguns casos, os mecanismos exactos de tais efeitos não estejam ainda totalmente esclarecidos. A insulina, hormona produzida na porção endócrina do pâncreas (juntamente com o glucagon), aumenta a permeabilidade celular à glicose. Estas duas hormonas são de importância elementar na regulação do metabolismo da glicose, lípidos e proteínas, sendo produzidas num tecido específico denominado de *Ilhéus de Langerhans*, constituído por dois tipos de células: as células alfa - produtoras de glucagon e as células beta - produtoras de insulina. Sempre que aumentam os níveis de glicémia, a insulina liberta-se e estabiliza rapidamente esses níveis. Este fenómeno ocorre devido ao efeito básico mais importante da insulina, que é a sua capacidade de aumentar o transporte de glicose através da maioria das membranas celulares. Na ausência desta hormona, o transporte de glicose para as células resume-se a 1/4 do normal. Por outro lado, na presença de uma hipersecreção de insulina, o transporte de glicose para as células pode atingir cinco vezes o valor normal. Isto significa que a velocidade do transporte de glicose para as células pode ser alterada até cerca de vinte vezes. Sem insulina, a maioria dos tecidos do corpo (com excepção do cérebro) é coagida a utilizar outros substratos energéticos para produzir energia, uma vez que a glicose não chega a entrar na célula. No entanto, na presença de insulina, a glicose passa a poder

assegurar a produção energética na célula, sendo a glicose absorvida em excesso armazenada sob a forma de glicogénio ou de gordura (após conversão).

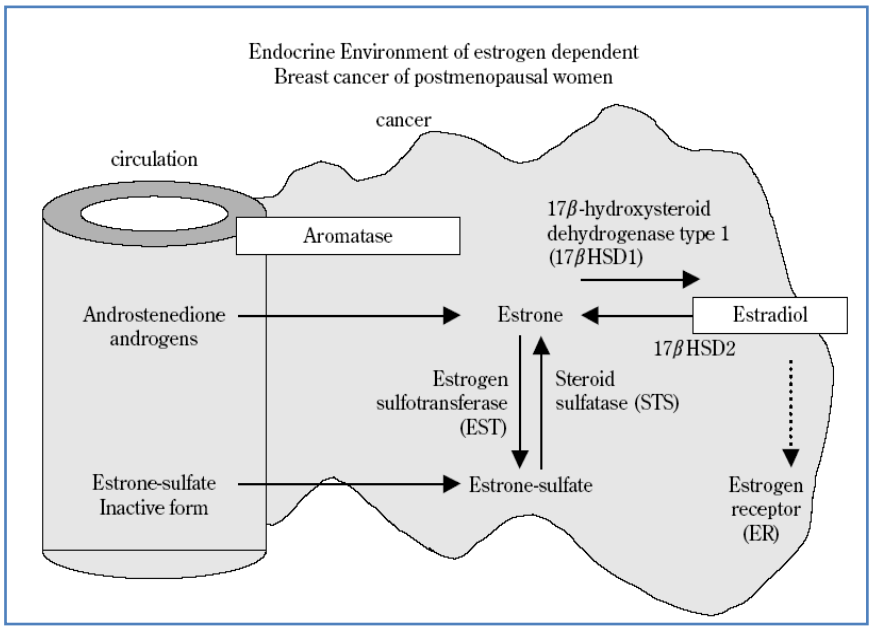


Figura 36. Metabolismo e produção intratumoral de estrogénio no carcinoma humano da mama.[414]

Apesar de, tradicionalmente, se considerar que os níveis de glicose são monitorizados pelas células pancreáticas α e β que libertam glucagon e insulina em resposta a variações dos níveis de glicose no sangue, regulando a captação de glicose e sua utilização nos tecidos periféricos, também o fígado age como um importante mecanismo tampão da glicose sanguínea, contribuindo para a manutenção de níveis adequados de glicémia. Quando a quantidade de glicogénio hepático armazenado alcança 5 a 6% da massa hepática, o glicogénio inibe a glicogénio sintetase de modo a que não ocorra mais deposição de glicogénio. Quando a glicémia diminui, o fígado liberta grande quantidade de glicose no sangue (fosforilase activa). O efeito da insulina sobre as células hepáticas é diferente do seu mecanismo de actuação sobre as outras células (difusão facilitada), dado que a insulina não aumenta o transporte de glicose através das membranas celulares dos hepatócitos. Estas membranas celulares são de facto muito permeáveis à difusão de glicose em qualquer direcção. Assim, após a entrada da glicose nos hepatócitos, dá-se a sua imediata fosforilação por acção de uma enzima específica das células hepáticas – a glicoquinase. Uma vez fosforilada, a glicose fica impossibilitada de abandonar a célula por não poder atravessar a sua membrana plasmática. A insulina actua provocando o aumento de concentração da glicoquinase nos hepatócitos. Como supramencionado, na ausência de insulina, ou quando a glicémia diminui, o fígado liberta grande quantidade de glicose para o sangue que é

originária de duas fontes: (1) da glicogenólise hepática - por activação da fosforilase e inibição da glicogénio sintetase. Ambos os efeitos ocorrem por aumento da concentração do cAMP devido à ausência de insulina. O glicogénio é rapidamente degradado a glicose-6-fosfato, sendo posteriormente desfosforilado pela enzima glicose-6-fosfatase. Finalmente, a glicose, uma vez na forma livre, atravessa rapidamente a membrana da célula hepática (o que não acontece na forma fosforilada) e difunde-se para o sangue circulante; (2) da gliconeogénese hepática – na ausência de insulina, grandes quantidades de glicose são sintetizadas pelo fígado. Esta carência de insulina estimula a gliconeogénese principalmente pela mobilização de a.a., das reservas proteicas, e de glicerol, das reservas lipídicas. Ambas as substâncias são, então, convertidas em glicose pelo fígado. Paralelamente, aumenta a síntese hepática de enzimas necessárias a este processo bioquímico. O consequente aumento de secreção de insulina perante um aumento da concentração de glicose sanguínea, fornece um mecanismo de *feedback* extremamente importante para a regulação da concentração da glicose no sangue. Portanto, a elevação da glicémia aumenta a secreção de insulina, e esta, por sua vez, promove o transporte de glicose para as células, reduzindo a glicémia de volta aos valores normais. Uma das funções mais importantes da insulina é controlar qual a fonte de energia a ser utilizada num determinado momento. Assim, a insulina promove o catabolismo dos glícidos, enquanto deprime o dos lípidos. Inversamente, a ausência de insulina promove o catabolismo dos lípidos, enquanto deprime o dos glícidos (excepto a nível cerebral). Não é, no entanto, apenas o excesso de glicose que constitui um estímulo para a secreção de insulina, dado que certo tipo de a.a. produzem o mesmo tipo de efeito. Os mais potentes são a lisina e a arginina. Com efeito, a secreção de insulina induzida pela glicose, pode atingir até o dobro, se em presença de um excesso de a.a.. Desta forma, os a.a. potenciam significativamente o estímulo da glicose sobre a secreção de insulina.

A insulina está sobretudo envolvida na translocação de GLUT-4, mediada por fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K), não sendo excluída a existência de uma via de sinalização paralela, independente da PI3K, que reclame a activação de tirosina quinase, cuja inibição previna a translocação de GLUT-4 estimulada por insulina.[415–417] A insulina acarreta efeitos a longo prazo ao nível do funcionamento dos GLUTs.[418] A exposição prolongada a insulina, tal como sucede no caso da diabetes tipo II, provoca um aumento nos níveis proteicos de GLUT-1, resultado de uma transcrição aumentada de mRNA do GLUT-1 e de uma elevação do seu tempo de semi-vida.[418,419]

O facto de a glicose e, possivelmente, a frutose, serem os únicos substratos disponíveis para produção de energia em tumores hipóxicos, sugere um enorme potencial terapêutico dos GLUTs no combate da doença cancerígena. Este potencial apresenta-se não apenas como marcador prognóstico virtual pela sua associação a metastização e, portanto, a um pobre prognóstico, mas também como alvo directo de intervenção clínica. Um melhor entendimento da coordenação entre vias de sinalização como IGF, insulina e hormonas e expressão de GLUTs,

pode representar maior potencial terapêutico na concepção de drogas capazes de explorar essa interacção, para benefício do doente.[301]

Relativamente à regulação dos transportadores de glicose por transcrição, é sabido que tipos distintos de cancro sobrexpressam diferente número de genes glicolíticos, que pode ir de um a dois no caso do colo do útero até onze, no caso do cérebro. As células normais também regulam a expressão génica em resposta a alterações na concentração de glicose.[283,420,421] Para além disso, existe evidência crescente do papel fundamental desempenhado por importantes oncogenes na regulação do metabolismo celular da glicose. O descontrolo da sua actividade, que se verifica em tumores malignos, pode servir para explicar o fenótipo glicolítico da maioria das células cancerígenas. São conhecidos mecanismos de activação da glicólise por vários oncogenes, alguns dos quais aumentam a transcrição de genes glicolíticos. Por exemplo, o gene de transcrição c-MYC liga-se directamente a vários genes glicolíticos, incluindo aqueles que codificam a hexoquinase-2, a enolase e a lactato-desidrogenase A.[422,423] A sobrexpressão de enzimas glicolíticas provocada pela actividade desregulada de c-MYC pode, portanto, constituir um mecanismo de utilização aumentada de glicose pelas células cancerígenas.[315]

Várias vias de sinalização oncogénica resultam na activação de HIF-1 e, portanto, na indução de uma resposta hipóxica que resulta numa elevação da expressão de transportadores de glicose e de enzimas glicolíticas. Os factores de crescimento cujos sinais interagem comprovadamente com o HIF-1 incluem o EGF, o receptor 2 do factor de crescimento epidérmico humano e o factor de crescimento semelhante a insulina. Para além disso, também a activação dos oncogenes RAS e SRC pode activar o HIF-1.[424–432] Assim, a activação do HIF-1 quer por hipóxia, quer por sinalização oncogénica, pode representar um mecanismo essencial de aumento da actividade glicolítica em células cancerígenas.[315]

A activação oncogénica da proteína ras aumenta a concentração de frutose-2,6-bifosfato (F2,6BP), um activador alostérico da enzima 6-fosfofruto-1-quinase (PFK-1). Esta, catalisa a fosforilação da frutose-6-fosfato (F6P) a frutose-1,6-bifosfato, que corresponde ao primeiro passo do processo sequencial da glicólise representando, por isso, um importante regulador da actividade glicolítica. A F2,6BP suprime a inibição da PFK-1 pelo ATP e permite a continuação do fluxo glicolítico a partir deste ponto.[433–435]

Algumas regiões tumorais apresentam baixa oxigenação devido a pobre perfusão local.[436] Alguns estudos demonstraram uma forte imunomarcação de GLUT-1 em regiões hipóxicas localizadas na periferia de focos necróticos de tumores da mama e tecidos de enxertos de carcinoma colo-rectal.[357,437] O efeito directo da hipóxia no metabolismo da glicose e na expressão de transportadores de membrana tem sido amplamente estudado *in vitro*, estando aparentemente relacionado com um aumento da captação celular de ^{18}F-FDG e da expressão de GLUT-1 em

células de carcinoma do ovário e do pulmão.[438,439] Já estudos efectuados em linhas celulares de cancro da mama, revelaram um aumento da captação de ^{18}F-FDG, embora na ausência de alterações da expressão proteica de GLUT-1 ou GLUT-3.[440]

4.6 Actividade Enzimática no Metabolismo Glicolítico

A glicólise é processada no citosol e é regulada por três enzimas: a primeira regula a entrada de glicose na via glicolítica, constituindo o catalisador da primeira reacção desta via metabólica e as outras duas regulam a via propriamente dita. As três enzimas reguladoras catalisam reacções unidireccionais, ou seja, as enzimas que catalisam as reacções inversas (gliconeogénese), não são as mesmas que catalisam as reacções na glicólise.

A reacção de conversão de glicose a glicose-6-fosfato, a primeira da cadeia, é catalisada pela enzima hexoquinase, que se liga à membrana externa da mitocôndria, perto de moléculas porina, canais proteicos aniónicos dependentes de energia, através dos quais ocorre passagem de ATP para o exterior da mitocôndria, em direcção ao citosol.[441] A hexoquinase reduz ATP a ADP e produz glicose-6-fosfato. Entretanto, a ADP entra na mitocôndria e actua como receptor (aceitador) de grupos fosforilo. O complexo porina/hexoquinase é estimulado pela insulina.[326] São conhecidos quatro tipos de hexoquinase, distinguidos pela respectiva mobilidade electroforética: o tipo I é mais abundante no cérebro e nos eritrócitos, o tipo II predomina em tecidos sensíveis a insulina como o coração, o diafragma ou o tecido adiposo, o tipo III não é predominante em nenhum tecido de forma específica e o tipo IV, também conhecido por glucoquinase, prevalece nas células hepáticas.[442] Nas células malignas, a hexoquinase tipo II e, em menor quantidade, a hexoquinase tipo I encontram-se sobrexpressas, independentemente de se encontrarem ou não nos respectivos tecidos de origem. Estas duas isoenzimas são exactamente iguais às dos tecidos normais e não parece haver evidência de formas de hexoquinase específicas do tumor, o que não exclui a possibilidade de ocorrência de uma modificação pós-translaccional.[442–445] A actividade enzimática da hexoquinase é inibida pela glicose-6-fosfato (produto da reacção de fosforilação da glicose), à excepção da glucoquinase, que não sofre regulação alostérica e cujo K_m (constante de dissociação do complexo enzima-substrato) é mais elevado, pelo que a sua saturação ocorre em níveis mais elevados de glicose, permitindo a sua eficácia no metabolismo de altos níveis de glicose.[442] Uma diferença substancial entre células malignas e normais consiste no facto de as primeiras dependerem consideravelmente da glicólise, enquanto o TCA (ciclo do ácido tricarboxílico ou ciclo de Krebs) demonstra menor importância e actividade.[446] Além da produção de energia, os intermediários glicolíticos são também envolvidos na síntese aumentada de DNA/RNA pela via das pentoses-fosfato e na síntese de lípidos (a partir da frutose-1,6-bifosfato), essencial para a síntese de membrana, ambas

características do crescimento tumoral. A capacidade glicolítica tumoral é geralmente aceite como característica do seu estado de diferenciação.[447,448] Alguns autores sugerem que a força motriz de um elevado fluxo glicolítico é a fosforilação da glicose, primeira reacção da via glicolítica catalisada pela hexoquinase, enzima que demonstra actividade aumentada nas células cancerígenas.[442,449] São conhecidos pelo menos dois factores que contribuem para o aumento da actividade da hexoquinase: o primeiro relaciona-se com dissemelhanças na ligação à membrana externa da mitocôndria e o segundo advém da sobre-produção da enzima em células cancerígenas. A percentagem de hexoquinase ligada à membrana mitocondrial aumenta com o grau de malignidade tumoral. Alguns estudos chegam mesmo a quantificar as percentagens de ligação e estimam cerca de 30% em células hepáticas normais e ligações de 70% em células tumorais desdiferenciadas.[442,450] A hexoquinase ligada à mitocôndria parece ser menos sensível do que a hexoquinase livre no citosol a inibição retroactiva estimulada pela glicose-6-fosfato, que constitui um importante mecanismo regulador nas células normais.[451] Curioso é, no entanto, o facto de a enzima, quer sob a forma solúvel, quer ligada, se apresentar quimicamente idêntica. Também a degradação proteolítica é menos influente na hexoquinase ligada. A hexoquinase II pode ainda ser distinguida em dois subtipos (IIa e IIb), distinguidos por interacção hidrofóbica em cromatografia. Devido à sua maior hidrofobia, e inferior carga negativa, a hexoquinase IIb demonstra maior capacidade de ligação à mitocôndria do que a hexoquinase IIa, parecendo existir a evidência de que a regressão no estado de diferenciação das células cancerígenas, se relaciona com alterações na porção e distribuição subcelular destes subtipos.[442]

O aumento da transcrição do gene HK parece ser, pelo menos em parte, causa da sobrexpressão da enzima na doença cancerígena, tendo sido demonstrada uma marcada elevação dos níveis de mRNA de hexoquinase em células tumorais.[326] Para além disto, em células normais, a insulina activa a transcrição da hexoquinase e o glucagon inibe-a (a insulina encontra-se activa no estado pós-prandial e o glucagon durante o jejum).[452] Contudo, ambos activam o gene promotor de hexoquinase II nas células cancerígenas, facto que pode ser interpretado como estratégia deste tipo de células para manter elevada a glicólise, mesmo perante um limitado fornecimento de glicose. No caso de os níveis de glicose circulante aumentarem, a célula pode utilizar imediatamente a glicose disponível, sem qualquer período de espera, o que significa que a transcrição da hexoquinase em células tumorais é independente do estado metabólico das células saudáveis vizinhas, o que se traduz numa característica vantajosa das células cancerígenas relativamente às células de origem.[326]

Outro passo importante no processo de glicólise é a conversão de frutose-6-fosfato em frutose-1,6-bifosfato. Esta reacção é catalisada pela fosfofrutoquinase e constitui o mais importante elemento de controlo da glicólise. Ao contrário de outros pontos de controlo onde actuam a hexoquinase e a piruvato quinase, este é o único episódio irreversível da glicólise, ou seja, esta enzima catalisa a reacção de moléculas que são intermediárias estritamente no

metabolismo glicolítico. A fosfofrutoquinase é uma enzima muito complexa, alostericamente regulada por vários activadores e inibidores. É inibida pelo ATP, cuja abundância relativa indica disponibilidade de energia, impedindo a glicólise quando existe energia suficiente, pela frutose-1,6-bifosfato, pelo citrato e pelo H^+, prevenindo a formação excessiva de lactato. A presença de citrato, intermediário do TCA e abundante sempre que se verificam elevados níveis de precursores biossintéticos, indica abundância de intermediários do ciclo de *Krebs*. Um activador notável da fosfofrutoquinase é a frutose-2,6-bifosfato, formada a partir da frutose-6-fosfato pela fosfofrutoquinase 2.[326] Quando a frutose-6-fosfato é abundante, como se verifica no caso das células cancerígenas pela sua insaciável capacidade de consumo de glicose, o sistema conduz a um aumento dos níveis de frutose-2,6-bifosfato e, consequentemente, a um estímulo da fosfofrutoquinase. A frutose-2,6-bifosfato não é um composto intermediário da glicólise, podendo ser indicadora de uma falha nas reacções de fosforilação, induzindo a produção de frutose-1,6-bifosfato, que já é um intermediário da glicólise, possibilitando, assim, a sua continuação. São também activadores desta enzima o AMP e o ADP, indicadores de falta de moléculas energéticas (ATP).[326]

O terceiro passo da glicólise é a reacção fosfoenolpiruvato/piruvato, catalisada pela piruvato quinase. Foram já descritos três tipos de piruvato quinase: o tipo L (*liver*), predominante no fígado e que apresenta regulação hormonal, o tipo M (*muscle*), preponderante no tecido muscular e no cérebro e o tipo A, abundante nos outros tecidos. A regulação alostérica desta enzima depende de uma série de inibidores e do activador frutose-1,6-bifosfato, que estimula a sua acção. O ATP actua como inibidor alostérico da isoenzima, de modo a abrandar a glicólise quando haja energia suficiente. Também a alanina, sintetizada a partir do piruvato por transaminação, sinaliza a presença de quantidade suficiente de bases de crescimento constituindo, como tal, um inibidor do processo, bem como a acetil-CoA e ácidos gordos de cadeia longa (indicadores da presença de fontes de energia).[326]

Das enzimas intervenientes no processo de glicólise, apenas a hexoquinase é representativa no processamento de ^{18}F-FDG, uma vez que a FDG-6-fosfato não constitui substrato para nenhuma das restantes enzimas presentes nas células.

Já na via das pentoses-fosfato, via alternativa à glicólise no metabolismo glicolítico, a actividade da glicose-6-fosfato desidrogenase encontra-se aumentada em tecidos malignos mamários relativamente aos tecidos normais. Alguns estudos revelam que essa actividade se encontra igualmente ampliada em tecidos morfologicamente normais de peças mamárias contendo patologia maligna, achado que evidencia que, também no cancro da mama, as alterações metabólicas precedem a ocorrência de alterações morfológicas.[453] Actividades elevadas de lactato desidrogenase e das enzimas da via das pentoses-fosfato resultam numa quantidade reduzida do piruvato disponível para entrar na mitocôndria, o que conduz a uma baixa taxa de oxidação pelo ciclo do TCA e, consequente, de geração de ATP.[309]. De outro modo, a glicose-6-fosfatase é

envolvida na via da pentoses-fosfato para gerar moléculas de ribose-5-fosfato (fase oxidativa), que é posteriormente utilizada na síntese de RNA e DNA, e de NADPH. O piruvato é convertido em lactato pela lactato-desidrogenase A (LDH-A), regenerando NAD^+ a partir do NADH. A piruvato desidrogenase quinase (PDK) bloqueia a activação mitocondrial de piruvato desidrogenase (PDH), limitando a conversão de piruvato em acetil-CoA e posterior alimentação do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) ou ciclo de *Krebs*. O factor 1 de indução de hipóxia (HIF-1α) estimula a expressão de LDH-A e PDK, prevenindo desse modo a acumulação de piruvato, processo enfatizado pela actividade limitadora de taxa de actividade da isoforma M2 de piruvato quinase (M2-PK). O HIF-1a, bem como AKT e c-MYC estimulam o fluxo glicolítico ao aumentar a expressão de transportadores de glicose e/ou de enzimas glicolíticas, de acordo com o representado na figura 37. A reduzida taxa de produção de ATP associada a elevados requisitos energéticos conduzem a um aumento da necessidade de glicólise e portanto, de captação de glicose.

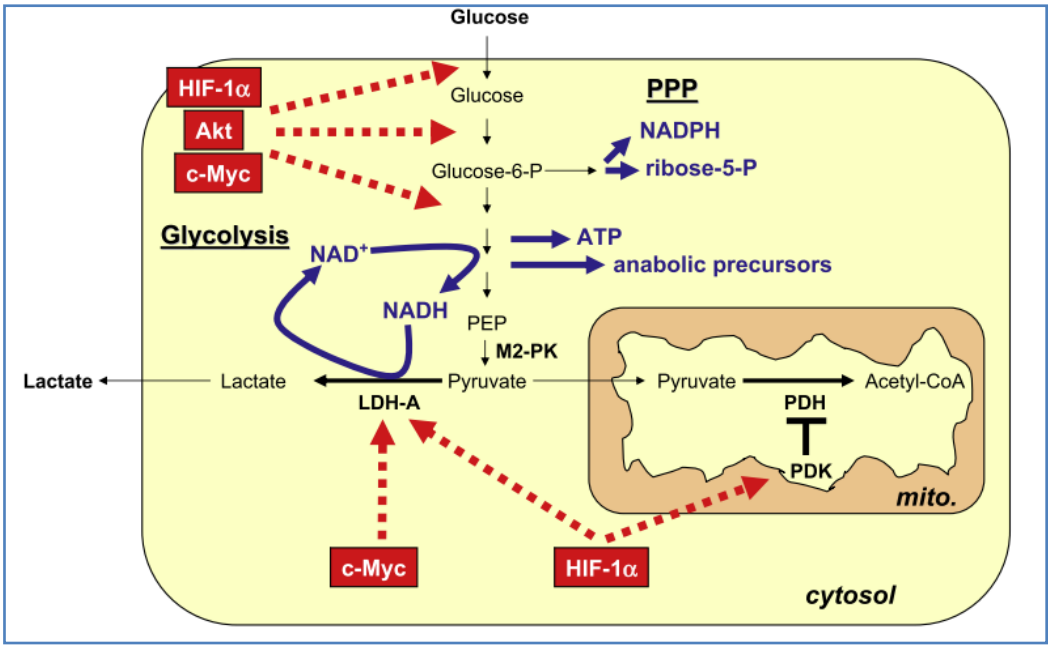


Figura 37. Glicólise e reprogramação metabólica em células cancerígenas em proliferação.[69]

5. Objectivos

Os objectivos primordiais deste estudo encontram-se seccionados nas componentes de trabalho *in vivo* e *in vitro*.

O objectivo dos estudos *in vitro* foi determinar o padrão de captação de ^{18}F-FDG em diferentes linhas celulares de cancro da mama, com diferentes expressões de receptores hormonais (ER e PR), diferentes expressões génicas (*HER2* e *TP53*) e submetidas a diferentes condições de propagação (elevada concentração de glicose (HG, do inglês, *high glucose*) e baixa concentração de glicose ou, do inglês, *low glucose* (LG)).

O objectivo dos estudos *in vivo*, realizados em doentes, foi determinar, retrospectivamente, os valores de captação de tumores da mama (primários ou recidivas locais), através do cálculo dos SUV's obtidos através de estudos de PET/CT com ^{18}F-FDG realizados em doentes em estadiamento inicial ou reestadiamento após recidiva.

5.1 Objectivos Específicos

- Determinar, por citometria de fluxo, as expressões membranar e citoplasmática das isoformas 1, 3, 5 e 12 de proteínas transportadoras de glicose, em cada uma das diferentes linhas celulares utilizadas nos estudos de captação *in vitro*, sob diferentes condições de propagação;
- Estabelecer correlação entre a expressão de GLUTs e a captação de ^{18}F-FDG em cada linha celular;
- Determinar, por citometria de fluxo, a expressão de KI-67 das diferentes linhas celulares utilizadas;
- Estabelecer correlação entre a expressão de KI-67 e a captação de ^{18}F-FDG em cada linha celular;
- Determinar o padrão de captação *in vivo* de tumores da mama, de acordo com o tipo histológico;
- Determinar o padrão de captação *in vivo* de tumores da mama, de acordo com o seu conteúdo hormonal;
- Determinar o padrão de captação *in vivo* de tumores da mama, de acordo com a expressão de KI-67;
- Determinar o padrão de captação *in vivo* de tumores da mama, de acordo com a expressão génica de HER2;

- Correlacionar a captação de ^{18}F-FDG obtida nos estudos *in vitro* com os resultados obtidos *in vivo* nos estudos PET de doentes cujos tumores apresentem características idênticas às das linhas celulares estudadas.

6. Materiais e Métodos

6.1 Estudos *in-vitro*

Os estudos *in vitro*, realizados fora de um organismo vivo em ambiente controlado, pretendem descrever os efeitos de variáveis experimentais num pequeno grupo de constituintes de um organismo. Este tipo de estudos procura encontrar mecanismos de acção biológica sem que outras variáveis influenciem os resultados. O desenvolvimento de modelos de células e animais, que representem com precisão a carcinogénese humana continua, por isso, a ser um dos principais objectivos da pesquisa relacionada com a doença oncológica.[454] Para esse fim, linhas celulares humanas de diversos tipos de cancro têm providenciado uma fonte copiosa de material propagável para a caracterização celular e molecular da patogénese cancerígena.[455–457] As técnicas de cultura celular referem-se, assim, à propagação derivada de células dispersas, obtidas originalmente a partir de um tecido, de uma cultura primária ou de uma linhagem celular, por técnicas de desagregação enzimática, mecânica ou química, garantindo sistemas viáveis de manutenção de células ao propiciarem um ambiente composto de substâncias indispensáveis à sobrevivência, crescimento e multiplicação celulares, de entre os quais se podem salientar sais e iões em concentrações adequadas, vitaminas, fontes de energia, aminoácidos e hormonas.[458]

Algumas limitações das técnicas de cultura celular, estão relacionadas com a necessidade de condições e técnicas assépticas de preparação, elevados custos de manutenção de incubadoras, câmaras de fluxo laminar, meios de cultura e materiais estéreis, para além da instabilidade genética e fenotípica das linhas celulares.[458,459] Em contrapartida, o estudo de culturas celulares poderá poupar o uso de modelos animais, desde que as técnicas utilizadas *in vitro* sejam devidamente validadas. Apesar de tudo, estão ainda instituídos os testes pré-clínicos em animais, no que se refere à utilização de novos fármacos e respectiva introdução nos mercados. Os principais tipos de investigação propiciados pela cultura celular incluem estudos de actividade celular, metabolismo energético, fluxo intracelular (como translocação de receptores hormonais), interacção ambiental (incluindo citotoxicidade, mutagénese e carcinogénese), interacções célula-a-célula (como estudos de cinética de proliferação celular, estudos de adesão e de motilidade celulares), genética (incluindo análise genómica de células sob condições normais e patológicas) e de produtos celulares (secreção e desenvolvimento de biotecnologia e biorreatores).[458]

Para os estudos *in vitro* de metabolismo celular do cancro da mama preconizados para este trabalho, foram utilizadas quatro linhas celulares humanas, três das quais de cancro da mama e uma de células de tecido conjuntivo normal. As linhas celulares de cancro da mama utilizadas diferem na expressão de receptores hormonais e de HER-2/neu. Assim, as células da linha MCF-7 apresentam fenótipo ER+, PR+, HER2/neu-, as células da linha HCC1806 (do inglês, *Human Carcinoma Cells* 1806) são denominadas células triplas negativas, apresentando fenótipo ER-,

PR- e HER2/neu- e as células da linha HCC1954 (do inglês, *Human Carcinoma Cells* 1954) apresentam super-expressão de HER2 com fenótipo ER-, PR- e HER2/neu+++.

6.1.1 Caracterização das Linhas Celulares Utilizadas

A linha MCF-7, representada na figura 38, é uma linha celular de adenocarcinoma humano da mama, constituída por células dos tecidos da glândula mamária de morfologia epitelial. Foi originalmente obtida pela ATCC (do inglês, *American Type Culture Collection*) e deriva de um foco metastático (efusão pleural) num organismo *homo sapiens* do sexo feminino, de etnia caucasiana, de 69 anos de idade e é constituída por células altamente rearranjadas. É uma linha celular do tipo aderente, cultivada em DMEM (do inglês, *Dulbecco's Modified Eagle Medium*) suplementado com 10% de SBF (soro bovino fetal). Pode ser crio-preservada em azoto líquido num ambiente de 95% de meio de cultura e 5% DMSO (do inglês, *Dimethyl Sulfoxide*). É recomendada a substituição do meio de cultura duas a três vezes por semana e a incubação a 37ºC.[460]

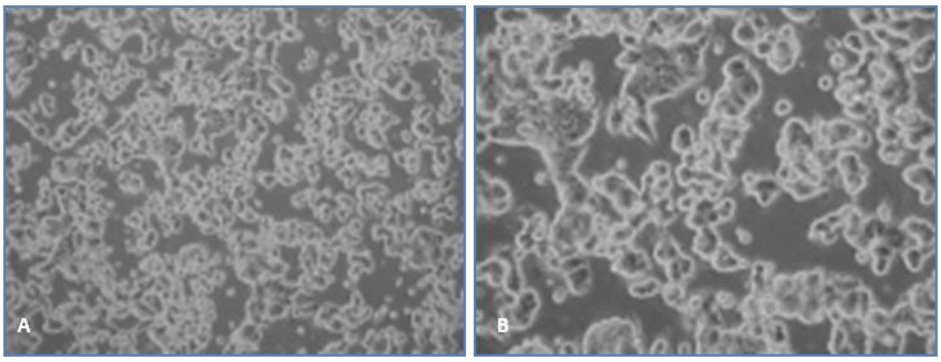


Figura 38. Micrografia de linha celular MCF-7 **(A)** Amplificação a 10x; **(B)** Amplificação a 20x.[460]

Esta linha celular mantém várias características do epitélio mamário diferenciado, incluindo a capacidade de processar estradiol através de receptores citoplasmáticos de estrogénio e a capacidade de formar agregados.[460] As suas células expressam o oncogene Tx-4, apresentam translocações em todos os cromossomas excepto no cromossoma 4 e deleções nos cromossomas 3 e 13, de acordo com o representado na figura 39. O seu crescimento é inibido pelo factor de necrose tumoral alfa (TNF α).[460,461]

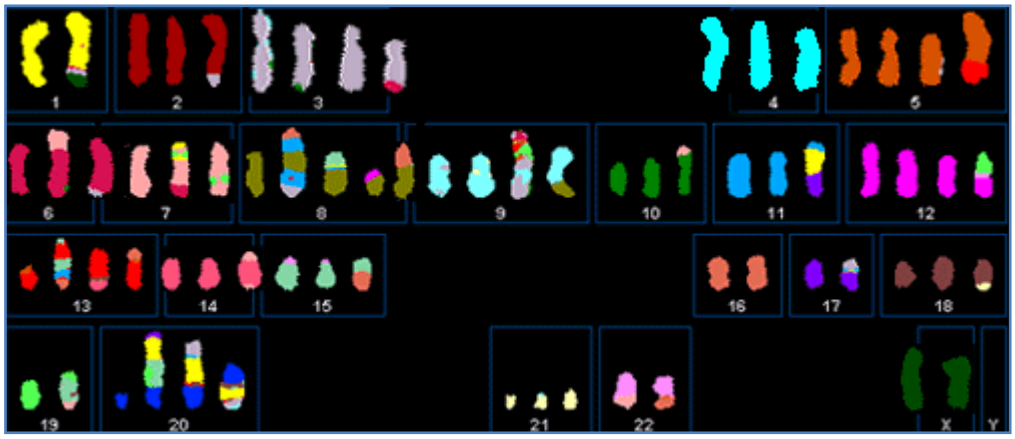


Figura 39. Cariótipo espectral (SKY) representativo da linha celular MCF-7.[461]

A linha HCC1806 é uma linha de células humanas de carcinoma da mama de tipo escamoso, de morfologia epitelial e origem nos tecidos da glândula mamária. Foi obtida pela ATCC a partir de um organismo *homo sapiens* do sexo feminino, de 60 anos de idade e etnia negra. É uma linha celular do tipo aderente, cultivada em meio RPMI 1640 (do inglês, *Roswell Park Memorial Institute*) suplementado com 10% de SBF, podendo ser crio-preservada em azoto líquido num ambiente de 95% de meio de cultura e 5% de DMSO. É recomendada a substituição do meio de cultura a cada 2 ou 3 dias e respectiva incubação a 37ºC. Esta linha celular foi iniciada a 31 de Julho de 1995 e demorou 10 meses a ser estabelecida. O tumor que lhe deu origem foi classificado como carcinoma acantolítico de células escamosas (adenóide ou pseudoglandular) estádio IIb, de acordo com a classificação TNM, grau 2, sem metastização nos gânglios linfáticos. Trata-se de uma linha de células pouco diferenciadas, sem expressão de HER2/neu, de ER, de PR ou de P53, mas positivas para a citoqueratina 19 e para o marcador epitelial celular específico para a glicoproteína epitelial 2 (EGP2, do inglês *Epithelial Glycoprotein 2*), que constituem também produtos celulares.[460] São células hiperdiplóides, extremamente rearranjadas com 30 anomalias cromossómicas estruturais, homozigóticas para deleções no gene FHIT (do inglês, *Fragile Histidine Triad*) na posição 3p14.2, com cromossomas 2, 3, 4, 6, 7, 10, 12, 14 e 21 anormais, tal como representado na figura 40.[460,461]

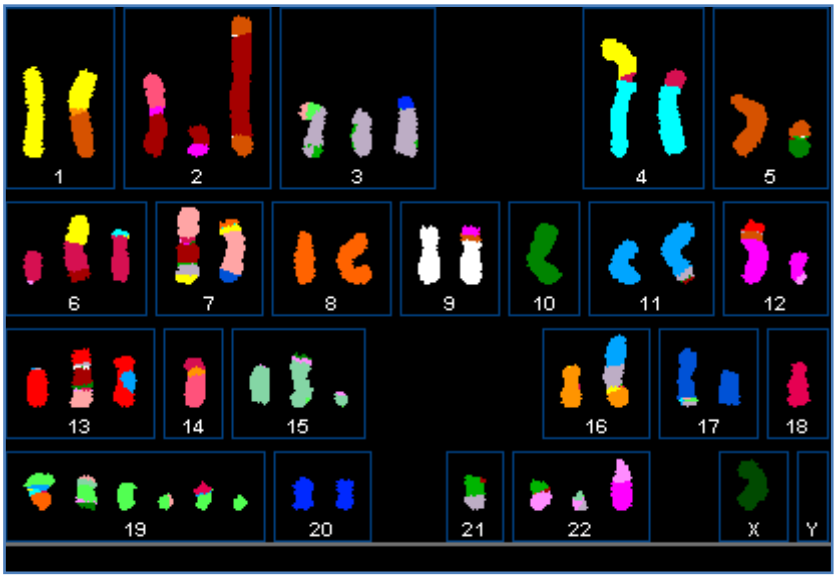


Figura 40. Cariótipo espectral (SKY) representativo da linha celular HCC1806.[461]

A linha HCC1954 é uma linha celular humana de cancro da mama, constituída por grandes células de morfologia epitelial que ocasionalmente apresentam vacúolos. É original dos ductos da glândula mamária, tendo sido obtida pela ATCC a partir de um organismo *homo sapiens* do sexo feminino, de 61 anos de idade e origem étnica indiana oriental, a 30 de Outubro de 1995. É uma linha celular do tipo aderente, cultivada em meio RPMI 1640 suplementado com 10% de SBF, podendo ser crio-preservada em azoto líquido num ambiente de 95% de meio de cultura e 5% de DMSO. É recomendada a substituição do meio de cultura a cada 2 ou 3 dias e incubação a 37ºC. É uma linha celular de células pouco diferenciadas, que demorou quatro meses a ser estabelecida. Derivou de um carcinoma ductal invasivo, estádio IIa, grau 3, não associado a metastização ganglionar. São células positivas para a citoqueratina 19 e para o EGP2, sem expressão de ER e de PR. O HER2/neu (verificado por ensaios ELISA, do inglês *Enzyme-linked immunosorbent assay*) encontra-se sobrexpresso.[460] É uma linha celular tetraploide, de células extremamente rearranjadas, com 35 arranjos cromossómicos estruturais envolvendo todos os cromossomas, excepto os cromossomas 11 e 16, de acordo com a representação da imagem 41.[460,461] O mapa genómico desta linha celular encontra-se representado na figura 42.

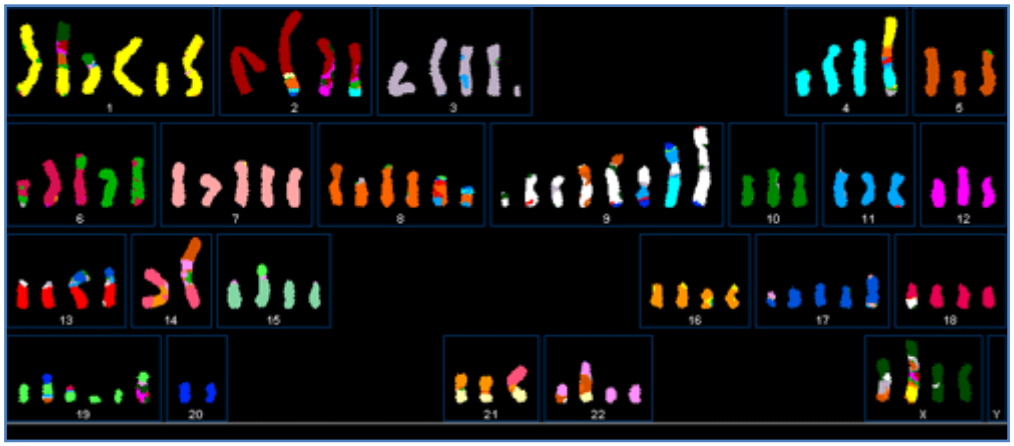


Figura 41. Cariótipo espectral (SKY) representativo da linha celular HCC1954.[461]

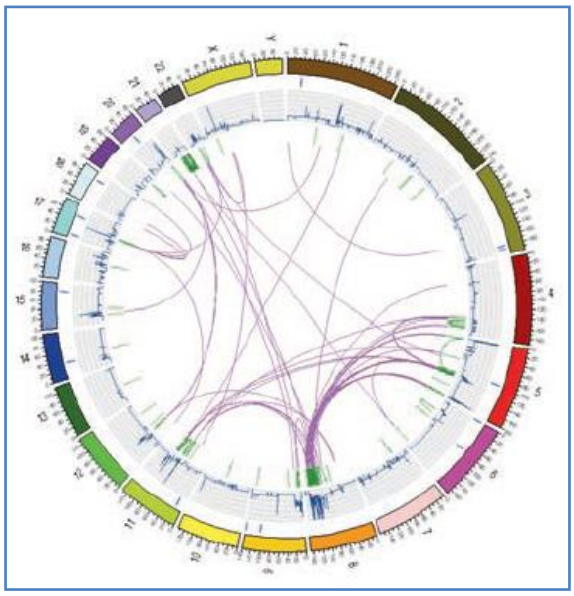


Figura 42. Mapa genómico da linha celular HCC1954. O gráfico circular representa os filamentos do exoma da linha celular, os segmentos definidos no contorno representam os cromossomas e as linhas que interligam os cromossomas representam as fusões intra ou inter-cromossómicas.[462]

A linha HFF-1 (do inglês, *Human Foreskin Fibroblast* 1) é uma linha celular humana derivada de células de tecidos normais, fibroblastos, originárias da pele. Foi estabelecida em 2003 pela ATCC, a partir de células do prepúcio de dois indivíduos recém-nascidos do sexo masculino. É uma linha celular do tipo aderente, cultivada em DMEM suplementada com 15% de SBF, meio de cultura esse que deve ser mudado duas vezes por semana ou sempre que se verifique uma

redução do pH. Pode ser crio-preservada em azoto líquido, através de suplementação do meio de cultura com 40% adicionais de SBF e 10% de DMSO.[460]

6.1.2 Culturas Celulares

Para os estudos *in vitro* realizados no âmbito deste trabalho foram efectuadas culturas das linhas celulares obtidas na *American Type Culture Collection*, descongeladas e propagadas após a recepção. As linhas celulares resultam da selecção, de culturas primárias, de clones capazes de sobreviver e de se multiplicarem indefinidamente. Estes clones (qualquer população de células descendentes de uma célula única ancestral) originam linhas celulares diplóides ou aneuplóides. As linhas diplóides apresentam mais de 75% das células diplóides, resistem a 30-50 gerações, são sensíveis para o isolamento de vírus e podem ser usadas na preparação de vacinas. As linhas aneuplóides ou linhas contínuas apresentam um cariótipo aneuplóide (o número de cromossomas $\neq$ 2n), podem derivar de tecidos neoplásicos ou de células normais mutadas e são úteis para diagnóstico, isolamento e propagação de vírus. Os fibroblastos, tipo de células predominante no organismo humano, podem sobreviver até 50 gerações. As linhas celulares imortais têm origem em células tumorais mas sofreram transformações oncogénicas. Não só crescem indefinidamente em cultura, mas também o fazem mais rapidamente, por vezes duplicando o seu número em menos de 24 horas.

De entre as várias técnicas existentes para cultura celular secundária, as mais utilizadas são cultura em suspensão e em monocamada. Esta foi a técnica aplicada às linhas celulares utilizadas no presente trabalho, uma vez que todas elas são do tipo aderente. Constituem requisitos para a cultura celular, meios de cultura apropriados com soro bovino fetal, nutrientes, factores de crescimento, antibióticos, atmosfera adequada e, neste caso, superfície de adesão. O soro bovino fetal, que representa a parte não celular do sangue, deve conter proteínas e factores necessários ao crescimento celular como insulina, transferrina, proteínas transportadoras do ferro e factores de crescimento em quantidades adequadas. O meio *Eagle* é, historicamente, um dos mais utilizados em culturas celulares, sendo composto por uma solução salina balanceada com vitaminas e aminoácidos. Este meio pode ser encontrado na forma básica (BEM ou, do inglês, *basal Eagle's medium*), que é mais indicado para culturas de células diplóides, ou na forma modificada (MEM ou, do inglês, *minimum essential medium*), que contém maiores quantidades de vitaminas e de aminoácidos. O meio de *Eagle* tem sido modificado por vários investigadores, nomeadamente por *Dulbecco* (1914-2012) que obteve o DMEM, fórmula que contém quatro vezes mais vitaminas e aminoácidos do que a fórmula basal e que foi ainda enriquecida com suplementos adicionais.[463] Outras culturas de células neoplásicas requerem a utilização de meio RPMI 1640.[464] A troca do meio celular em intervalos regulares é primordial para a manutenção

das condições ideais de pH, permitindo estabelecer um equilíbrio entre proliferação e actividade de biossíntese celulares.[465] A presença de vermelho de fenol, visível na figura 43(A), constitui um indicador visual do pH do meio o que permite, facilmente, constatar eventuais mudanças que apontem a necessidade de mudança do mesmo.

Considerando que, para adequada cultura celular, é necessário mimetizar as condições fisiológicas normais e que nessas condições as células contactam e interagem com outras células e com a matriz extracelular, é fundamental fornecer às células em cultura, uma superfície de adesão. As células animais normais não crescem, por isso, em suspensão, apresentando-se, naturalmente, sob a forma de culturas aderentes. Já algumas células tumorais podem crescer em suspensão. Para suporte das culturas celulares são, neste contexto, utilizados frascos de vidro ou de plástico como poliestireno, PVC ou *Teflon*, como representados na figura 43(B), especialmente tratados de forma a melhorar a adesão celular sendo para tal carregados negativamente com SO_3^{2-}, poli lisina, dextrano, colagéneo, gelatina ou fibronectina. As células em cultura segregam colagénio e outros componentes da matriz extracelular que se ligam ao suporte.

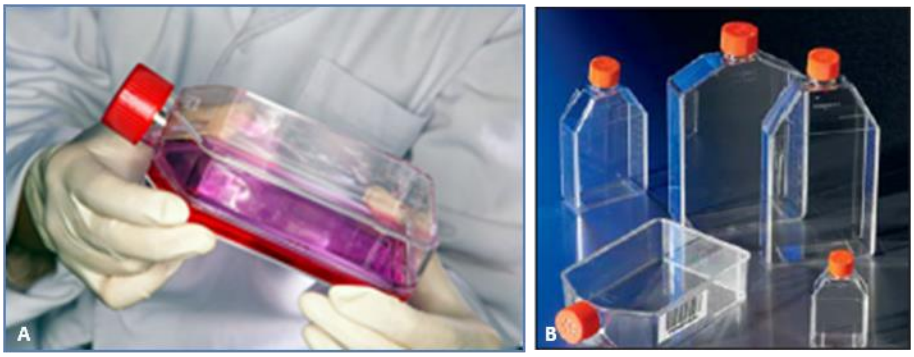


Figura 43. Superfície de adesão utilizada em cultura celular. **(A)** Presença de vermelho de fenol na cultura celular;[466] **(B)** *T-flasks* de plástico utilizados para propagação celular.[467]

As células MCF-7, representadas na figura 44 e as HFF-1 foram cultivadas em DMEM (Sigma D-5648) suplementado com 100µM de piruvato de sódio (Gibco 11360), soro bovino fetal (Gibco 2010-09) (10% para as MCF-7 e 15% para as HFF-1) e 1% de antibiótico (100U/mL de penicilina e 10µg/mL estreptomicina, Gibco 15140-122). As linhas celulares HCC1806, representadas na figura 45 e as HCC1954, na figura 46, foram cultivadas em meio RPMI-1640 (Sigma R-4130), suplementado com 100µM de piruvato de sódio (Gibco 11360), 10% de soro bovino fetal (Gibco 2010-09) e 1% de antibiótico (100U/mL de penicilina e 10µg/mL estreptomicina, Gibco 15140-122). Posteriormente, todas as linhas celulares foram propagadas utilizando os mesmos meios de cultura mas com uma concentração de glicose inferior (5mM): *Dulbecco's Modified Eagle Medium Low Glucose* (DMEM LG) (Gibco 31600-091) e *Roswell*

Park Memorial Institute Low Glucose (RPMI LG) (Sigma 1383). A este último meio foram adicionados 0,9g/L de D-(+)-Glicose (Sigma G7528) de modo a atingir a concentração de glicose desejada.

O fornecimento de condições ambientais favoráveis, incluindo as características físico-químicas dos substratos presentes nos meios de cultura, temperatura de incubação, provisão de gases e de condições aeróbias, é fundamental para que as células expressem as suas funções especializadas e proliferem em cultura.[468] Para tal, a propagação das culturas aderentes foi feita em atmosfera controlada, a 37ºC e 5% de CO_2 utilizando uma incubadora HeraCell®150.

Os diferentes tipos celulares podem ser identificados por características morfológicas típicas num organismo íntegro mas, em cultura celular, essas diferenças normalmente desaparecem. Contudo, de uma maneira geral, as células fibroblásticas apresentam-se, mesmo em cultura, alongadas, fusiformes ou com prolongamentos citoplasmáticos aderidos à superfície da cultura. Normalmente apresentam-se dispostas em arranjo paralelo, porém o contacto da confluência inibe a sua expansão.[469] Já as células epiteliais tendem a apresentar-se com um formato mais ou menos hexagonal e intimamente unidas.[470]

Todo o material de manipulação das culturas celulares foi devida e previamente esterilizado. Da mesma forma, todos os procedimentos foram efectuados nas condições de esterilização e de assépsia necessários, em câmara de fluxo laminar.

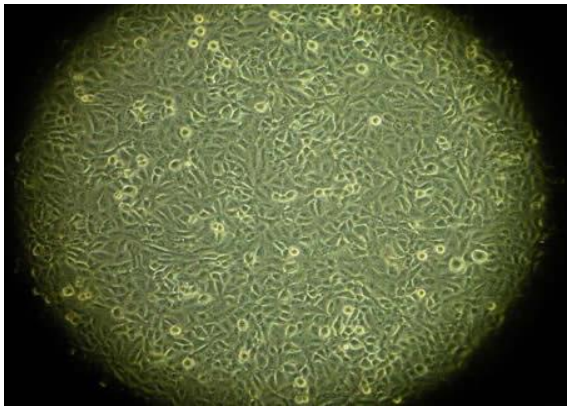


Figura 44. Células MCF-7 em cultura.

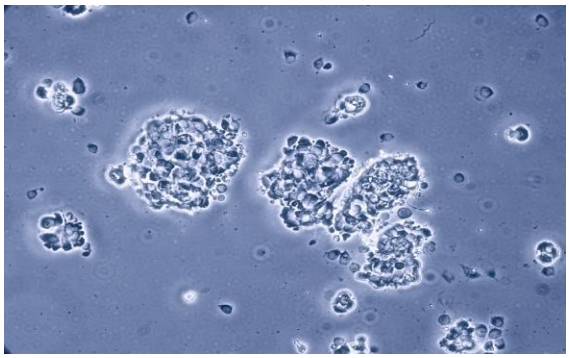


Figura 45. Células HCC1806 em cultura.

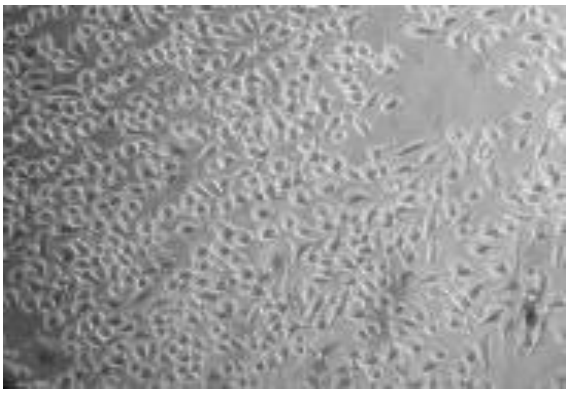


Figura 46. Células HCC1954 em cultura.

6.1.3 Estudos de Captação com ^{18}F-FDG

Os estudos de captação com ^{18}F-FDG permitem verificar o influxo deste radiofármaco, ao longo do tempo, nas células em estudo. Para a realização dos estudos de captação foi necessária a preparação de uma suspensão celular com 2×10^6 células. Para tal, as células foram incubadas com uma solução de tripsina/EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético ou, do inglês, *EthyleneDiamine Tetraacetic Acid*) a 0,25% durante 3 minutos, para que ocorresse a desagregação celular. De seguida, foi adicionado meio de cultura para inactivar a tripsina e centrifugada a suspensão celular a 1000 rotações por minuto (rpm) durante 5 minutos (centrífuga *Heraeus Multifuge* 1L-R; raio do rotor 18,7 cm). Após a centrifugação, as células foram ressuspensas num volume de meio de cultura calculado de modo a obter uma concentração de $2x10^6$ células/mL e foram deixadas a repousar a 37ºC durante 60 minutos em frascos de 25cm^2 para recuperarem do stresse induzido pela acção da tripsina, numa incubadora calibrada para 95% de ar e 5% de CO_2. Após a preparação da suspensão celular, foi adicionada uma actividade de ^{18}F-

FDG igual a 0,925MBq/mL. Após a adição do radiofármaco e ao longo de 240 minutos, foram sendo retiradas alíquotas de 200µL da suspensão celular para tubos de *eppendorf* contendo solução de tampão fosfato salino (PBS ou, do inglês, *Phosphate Buffered Saline*) gelado, de modo a reduzir o metabolismo celular. De seguida, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm durante 60 segundos para completa separação entre o *pellet* e o sobrenadante, tendo este sido recolhido para um tubo identificado. Seguiu-se uma lavagem do *pellet* com 500µL de PBS gelado, repetindo-se o procedimento de separação do sobrenadante para obter a completa rentabilização do sobrenadante. Os sobrenadantes resultantes das centrifugações foram recolhidos para os tubos identificados e os *pellets* permaneceram nos respectivos tubos de *eppendorf* devidamente identificados. Após a incubação das células com o radiofármaco e a recolha, em separado, dos *pellets* e dos sobrenadantes, foi possível calcular a captação de ^{18}F-FDG por parte das células para cada tempo pré-estabelecido (0, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos). A quantificação da percentagem de captação de ^{18}F-FDG pelas células, foi feita através da contagem de ambas as fracções (*pellets* e sobrenadantes) de cada amostra recolhida no calibrador de doses (Capintec Inc., Modelo CRC – 15W) em contagens por minuto (CPM) e utilizando a equação 2:

$$\%\ Captação = \frac{CPM_{pellet}}{CPM_{pellet} + CPM_{sobrenadante}} \times 100 \quad (\text{eq. } 2)$$

Após este cálculo, os valores obtidos para a percentagem da captação foram normalizados para 10^6 de células.

De referir que este procedimento foi efectuado para as células cultivadas em HG (meio normal, com elevada concentração de glicose) e repetido para as células cultivadas em LG. Após a recolha das amostras para determinação da captação de ^{18}F-FDG aos 240 minutos, foram recolhidos 20 µL de suspensão celular, para determinação da viabilidade celular através do método de exclusão do azul de tripano.

6.1.4 Estudos de Viabilidade Celular

A determinação da viabilidade celular foi realizada através do método de exclusão, utilizando o corante azul de tripano. Este método baseia-se na entrada de azul de tripano nas células que possuem a membrana celular corrompida, o que traduz a presença de células não viáveis, corando-as de azul. A contagem das células realiza-se utilizando uma câmara de Neubauer, hemocitómetro ou câmara de contagem, representado na figura 47, e um microscópio com ampliação de 100x. A câmara de Neubauer é uma lâmina grossa de uso microscópico, com

formato rectangular e normalmente de vidro, com uma depressão no centro, utilizada para fazer contagem de células de uma suspensão por unidade de volume.

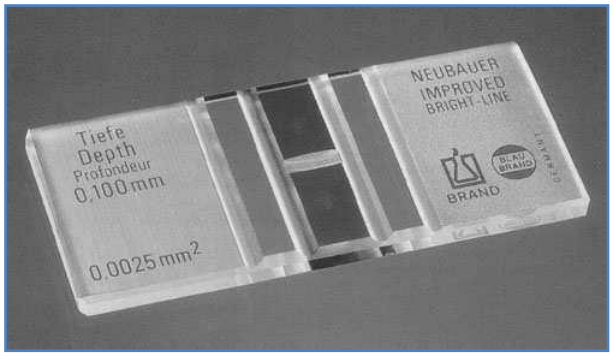


Figura 47. Hemocitómetro ou câmara de Neubauer.[471]

No centro desta lâmina existem várias linhas perpendiculares com marcações em quadrantes, de acordo com o representado na figura 48. Ao analisar, em microscópico com a objectiva de imersão, facilmente se percebe que o hemocitómetro apresenta duas câmaras divididas em 9 quadrados de 1,0 mm cada (ou seja, existem três tipos diferentes de quadrantes, que juntos formam um quadrado maior). Estes quadrantes são usados como referência para fazer as contagens e assim determinar a concentração de células viáveis presentes na amostra utilizada.

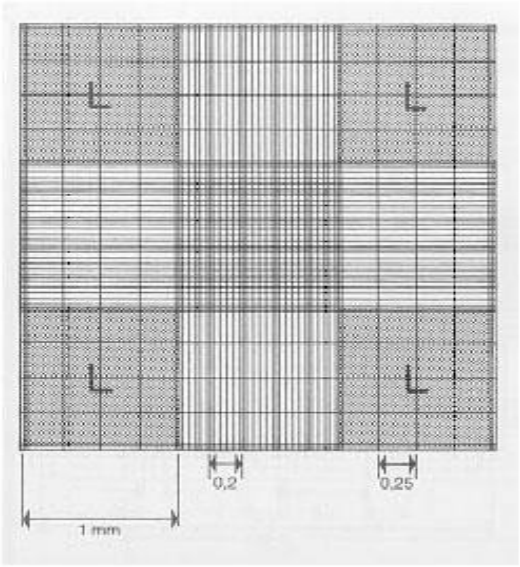


Figura 48. Representação dos quadrantes existentes na lâmina do hemocitómetro.[471]

Após os estudos de captação, foram retiradas amostras de 20 μL da suspensão celular e colocadas num tubo *eppendorf* contendo 20 μL de azul de tripano. De seguida, com auxílio de uma micropipeta, a suspensão foi homogeneizada e colocada no hemocitómetro para a contagem das células, processo representado no esquema da figura 49. Após colocação da suspensão no hemocitómetro, este é coberto por uma lamela, a 0,1 mm dos quadrados, perfazendo assim um volume de 0,1 mm^3 em cada quadrado. A concentração das células por mL é, portanto, a média das células contadas por quadrado × 10^4.

Ao microscópio, foram contadas as células presentes nos quatro quadrantes dos cantos do hemocitómetro, assinalados pela letra L na figura 48. Da contagem efectuada, resultou a quantificação das células que coraram de azul, correspondentes a células mortas e das células brilhantes, não coradas de azul, que traduzem células vivas. A percentagem de células viáveis foi determinada de acordo com a seguinte equação (eq. 3):

$$\%\ \text{Viabilidade Celular} = \frac{\text{células vivas}}{\text{células vivas} + \text{células mortas}} \times 100 \qquad \text{(eq. 3):}$$

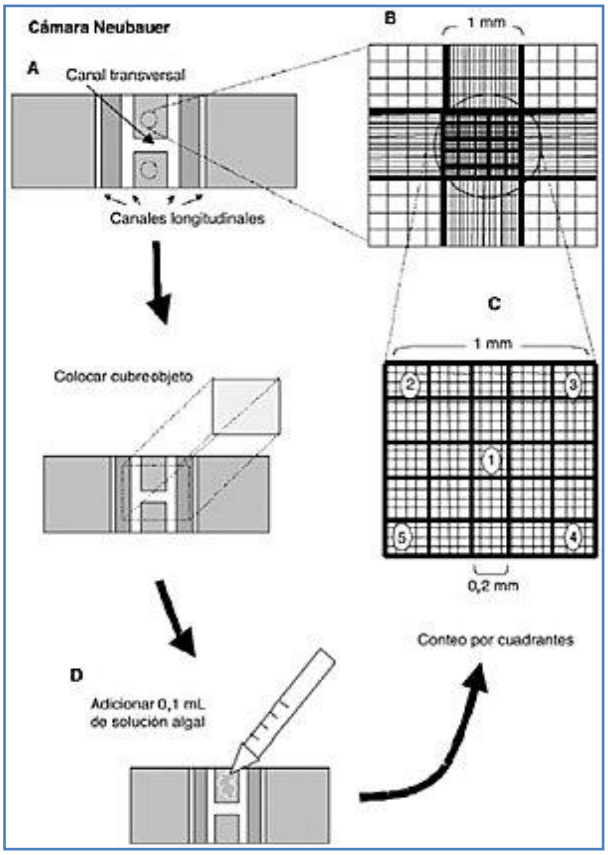


Figura 49. Esquematização dos procedimentos de determinação da viabilidade celular, pelo método de exclusão com azul de tripano.[471]

6.2 Citometria de Fluxo

A citometria de fluxo é uma técnica utilizada para a análise de múltiplos parâmetros de células individuais em populações heterogéneas. Permite contar, examinar e classificar células ou outras partículas biológicas, microscópicas, suspensas num meio. Permite, ainda, analisar simultaneamente e num curto período de tempo, múltiplas características físicas e químicas de células em suspensão através de um aparelho de detecção óptico-electrónico, cujas variadas aplicações incluem imunofenotipagem, análise de ploidia ou contagem de células. O citómetro de fluxo efectua este tipo de análise fazendo passar milhares de células por segundo através de um feixe de raios laser e captando a luz emergente de cada célula produzida à sua passagem.[472] Os dados recolhidos são depois analisados estatisticamente pelo *software* do sistema de citometria, reportando características celulares como tamanho, complexidade ou fenótipo, de acordo com o esquema da figura 50.

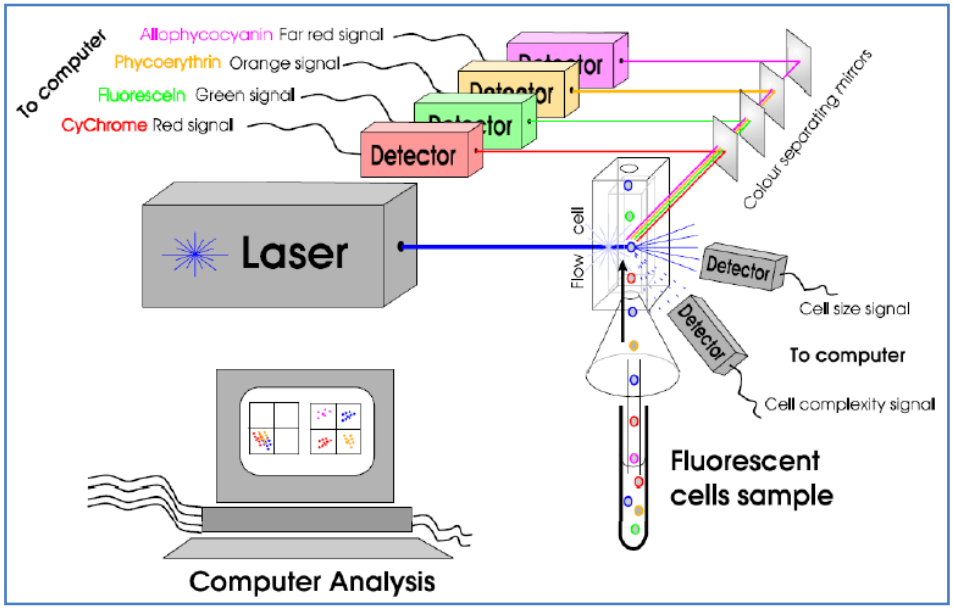


Figura 50. Instrumentação de um citómetro de fluxo.[473]

Para uma recolha precisa de dados, é necessário que as partículas ou células em estudo passem através do feixe de laser, uma a uma. A maioria dos citómetros de fluxo alcança este objectivo através da injecção da amostra num fluxo corrente de solução salina. A corrente contendo a amostra é comprimida até uma dimensão próxima do diâmetro celular, mecanismo designado de focalização hidrodinâmica. À medida que a amostra passa através do laser, cada célula ou partícula, dispersa ou refracta a luz em direcção a todos os ângulos. A dispersão que

ocorre na linha do feixe de luz é designada de *forward scatter* (FSC).[472] Vários detectores são apontados ao local onde o fluxo de partículas passa através do feixe de luz: um na linha do feixe de luz e vários perpendiculares a este (*side scatter*, SSC), além de um ou mais detectores fluorescentes. Cada partícula suspensa que passa através do feixe, dispersa a luz de uma forma distinta e os corantes químicos fluorescentes encontrados na partícula ou a ela ligados, podem ser excitados emitindo luz de menor frequência (ou maior comprimento de onda) do que o da fonte de luz. Esta combinação de luz dispersa e fluorescente é melhorada pelos detectores e, por análise das flutuações de brilho de cada detector (uma para cada pico de emissão fluorescente), é possível explorar vários tipos de informação sobre a estrutura física e química de cada partícula, individualmente, pela conversão de intensidade de luz em voltagem efectuada pelos detectores. A luz dispersa recebida pelos detectores é traduzida num pulso voltaico, que é proporcional à dimensão das células ou partículas analisadas. Um histograma de dados de FSC constitui uma representação gráfica unidimensional da distribuição de volumes numa população, já que a FSC se correlaciona com o volume celular. A SSC depende, por seu lado, da complexidade interna e externa da partícula (por exemplo, rugosidade da membrana). A utilização de ambos os dados fornecidos por FSC e SSC permite uma análise multiparamétrica da amostra, uma vez que origina gráficos de dispersão bidimensionais.[472]

No contexto deste trabalho, a citometria de fluxo foi utilizada na:

a) Avaliação da expressão membranar de proteínas transportadoras de glicose em células incubadas em *high glucose*;
b) Avaliação da expressão citoplasmática de proteínas transportadoras de glicose em células incubadas em *high glucose*;
c) Determinação da expressão membranar de proteínas transportadoras de glicose em células incubadas em *low glucose*;
d) Determinação da expressão citoplasmática de proteínas transportadoras de glicose em células incubadas em *low glucose*;
e) Determinação da expressão celular de KI-67;
f) Determinação da expressão celular de ER, PR e HER2.

Uma das formas mais comuns de estudar características celulares por citometria de fluxo envolve a utilização de moléculas fluorescentes (fluorocromos), tais como anticorpos marcados com fluoróforos. Em estudos que envolvam estas técnicas, os anticorpos marcados são adicionados à amostra, sofrendo posterior ligação a moléculas específicas presentes na superfície celular ou mesmo no interior das células. Deste modo, quando o raio laser de comprimento de

onda adequado atinge o fluoróforo, é emitido um sinal fluorescente, subsequentemente detectado pelo citómetro.[472]

Para cada uma das marcações efectuadas foram necessárias aproximadamente 10^6 células. As células foram preparadas, inicialmente com desagregação celular das placas utilizando uma solução de tripsina/EDTA a 0,25% (Gibco 25200). Posteriormente, foram colocadas num tubo de citómetro previamente marcado. Os tubos de citómetro foram centrifugados, o meio de cultura foi decantado e as células ressuspensas em 500µL de PBS. Seguidamente procedeu-se à marcação das células com o anticorpo desejado. Para todas as marcações, o número de eventos obtidos através do programa *CellQuest*™, correspondente ao número de células, foi de 10^4. Para a análise e quantificação da informação foi utilizado um software específico que corre em computador dedicado (*Paint-a-Gate* 3.02, *Machintosh Software*).

6.2.1 Quantificação da Expressão Membranar de GLUTs

Para avaliação da expressão membranar dos transportadores GLUT-1, GLUT-3, GLUT-5 e GLUT-12, foram lavadas por centrifugação com PBS durante 5 minutos a 1000 rpm, aproximadamente 10^6 células que, posteriormente, foram marcadas com 1µg de anticorpo monoclonal anti-GLUT-1-PE (PE, ficoeritrina) (*R&D Systems*) e com 1µg dos anticorpos monoclonais anti-GLUT-3 (*R&D Systems*), anti-GLUT-5 (*R&D Systems*) e anti-GLUT-12 (*Santa Cruz Biotechnology, Inc.*) puros, durante 15 minutos, à temperatura ambiente e na ausência de luz. Após incubação, as células marcadas com o anticorpo monoclonal anti-GLUT1-PE foram lavadas com PBS por centrifugação a 1000 rpm, durante 5 minutos e ressuspensas em 400 µl do mesmo tampão. Estas células foram armazenadas à temperatura de 4˚C até ao momento de aquisição de dados no citómetro de fluxo. As células marcadas com os anticorpos anti-GLUT-3, anti-GLUT-5 e anti-GLUT-12 puros foram lavadas com PBS por centrifugação a 1000 rpm, durante 5 minutos e seguidamente marcadas com um 1µg de anticorpo secundário conjugado com PE (*Santa Cruz Biotechnology, Inc.*) durante 20 minutos, à temperatura ambiente e na ausência de luz. Após incubação, as células foram lavadas com PBS por centrifugação a 1000 rpm, durante 5 minutos e ressuspensas em 400 µl do mesmo tampão. Posteriormente, todas as células foram analisadas no citómetro já mencionado e os resultados obtidos foram expressos como mediana da intensidade de fluorescência (MIF).

6.2.2 Quantificação da Expressão Citoplasmática de GLUTs

Para avaliação da expressão citoplasmática dos transportadores GLUT-1, GLUT-3, GLUT-5 e GLUT-12, foram lavadas por centrifugação com PBS, durante 5 minutos, a 1000 rpm, cerca de 10^6 células. Posteriormente, as células foram ressuspensas em 100 µl de solução A (solução fixante – *Kit IntraCell* (*ImmunoStep*)) e incubadas durante 15 minutos, à temperatura ambiente e na ausência de luz. Após incubação, as células foram lavadas com PBS por centrifugação a 1000 rpm, durante 5 minutos. Seguidamente, procedeu-se à ressuspensão das células em solução B (solução permeabilizante – *Kit IntraCell* (*ImmunoStep*)) e respectiva marcação com os anticorpos monoclonais anti-GLUT-1-PE, anti-GLUT-3, anti-GLUT-5 e anti-GLUT-12 como descrito no ponto 6.2.1.

6.2.3 Quantificação do KI-67

O antigénio KI-67 é uma proteína nuclear expressa em células proliferativas, que pode ser necessária à manutenção da condição de proliferação celular.[474] É constituída por duas componentes: uma de 345kDa e outra de 395kDa. Está presente somente em células que se encontram em divisão celular (fases G1, S, G2 e M do ciclo celular), não é expressa em G0 e apresenta um aumento linear de expressão ao longo do ciclo celular, atingindo o máximo em G2M. Estabelece a taxa de crescimento num grande número de neoplasias e o alto ou baixo índice de células que lhe sejam positivas, em todas as fases do ciclo celular, tem forte correlação com o alto ou baixo grau histológico da neoplasia, respectivamente. Está associada à transcrição ribossomática de RNA e tem sido utilizada como marcador em tumores sólidos, tendo sido já demonstrada a existência de uma correlação entre o índice de KI-67 e grau histopatológico, aspecto morfológico e índice mitótico das neoplasias. A expressão de KI-67 é inversamente correlacionada com a expressão de receptores de estrogénio e progesterona e directamente correlacionada com a invasão de gânglios linfáticos. Altas taxas de proliferação celular são associadas a um menor tempo de sobrevivência livre de doença. Tumores que apresentam menos de 10% de células positivas têm um baixo índice proliferativo; entre 10 e 25%, um moderado índice proliferativo; mais de 25% de células positivas, um alto índice proliferativo (neste caso indicando maior agressividade tumoral).

O KI-67 (KI-67) (*Santa Cruz Biotechnology, Inc.*: sc-23900) é um anticorpo monoclonal murino criado contra fracções nucleares de tumores humanos, que detecta o antigénio KI-67 de origem humana por imunofluorescência, imunohistoquímica e citometria de fluxo (1 µg por 10^6 células), de acordo com o representado na figura 51.[474]

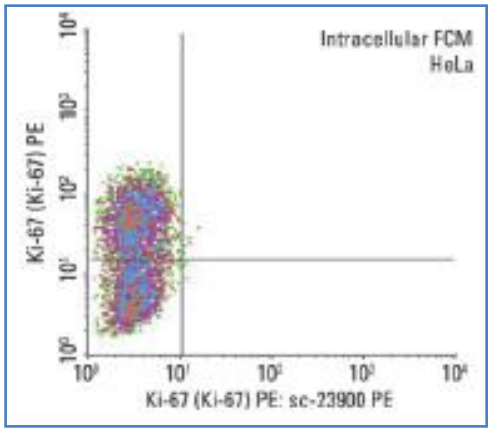


Figura 51. KI-67 PE: sc-23900 PE. Análise por citometria de fluxo da expressão intracelular de células *HeLa* fixas e permeabilizadas. A linha preta do histograma representa o controlo do isótopo, anticorpos murinos normais IgG_1: sc-2866.[474]

Para avaliação da expressão do KI-67, foram lavadas por centrifugação com PBS durante 5 minutos, a 1000 rpm, 10^6 células. Posteriormente, as mesmas foram ressuspensas em 100 µl de solução A (solução fixante – *Kit IntraCell* (*ImmunoStep*)) e incubadas durante 15 minutos, à temperatura ambiente e na ausência de luz. Após incubação, foram lavadas com PBS por centrifugação a 1000 rpm durante 5 minutos e, seguidamente, procedeu-se à ressuspensão em solução B (solução permeabilizante – *Kit IntraCell* (*ImmunoStep*)) e respectiva marcação com anticorpo monoclonal KI-67, puro, durante 15 minutos, à temperatura ambiente e na ausência de luz. Após incubação, as células marcadas com o anticorpo monoclonal foram lavadas com PBS, por centrifugação a 1000 rpm, durante 5 minutos, ressuspensas em 400 µl do mesmo tampão e armazenadas à temperatura de 4˚C, até ao momento de aquisição de dados no citómetro de fluxo.[475]

6.2.4 Quantificação da Expressão de Receptores Hormonais

Os receptores hormonais são proteínas especializadas, presentes nas células mamárias que, ao sofrerem ligação às hormonas correspondentes, desencadeiam uma série de eventos implicados em várias funções celulares, incluindo multiplicação celular e, consequentemente, crescimento tumoral. Cerca de dois terços dos carcinomas de mama apresentam expressão de receptores de ER e são denominados ER+. A presença de ER permite que os estrogénios exerçam as suas funções dentro das células, como proliferação celular ou síntese de várias moléculas, entre as quais de outros receptores, como o da progesterona.

Para avaliação da expressão de ER-α, foram lavadas por centrifugação com PBS, durante 5 minutos, a 1000 rpm, 10^6 células. Posteriormente, as mesmas foram ressuspensas em 100 µl de solução A (solução fixante – *Kit IntraCell* (*ImmunoStep*)) e incubadas durante 15 minutos, à temperatura ambiente e na ausência de luz. Após incubação, foram lavadas com PBS, por centrifugação a 1000 rpm, durante 5 minutos e, seguidamente, procedeu-se à ressuspensão em solução B (solução permeabilizante – *Kit IntraCell* (*ImmunoStep*)) e respectiva marcação com anticorpo monoclonal anti-ER-α (ABCAM: AB1104), puro, durante 15 minutos, à temperatura ambiente e na ausência de luz. Após incubação, as células marcadas com o anticorpo monoclonal foram lavadas com PBS, por centrifugação a 1000 rpm, durante 5 minutos, ressuspensas em 400 µl do mesmo tampão e armazenadas à temperatura de 4˚C, até ao momento de aquisição de dados no citómetro de fluxo.

Para avaliação da expressão de PR, foram lavadas por centrifugação com PBS, durante 5 minutos, a 1000 rpm, 10^6 células. Posteriormente, as mesmas foram ressuspensas em 100 µl de solução A (solução fixante – *Kit IntraCell* (*ImmunoStep*)) e incubadas durante 15 minutos, à temperatura ambiente e na ausência de luz. Após incubação, foram lavadas com PBS, por centrifugação a 1000 rpm, durante 5 minutos e, seguidamente, procedeu-se à ressuspensão em solução B (solução permeabilizante – *Kit IntraCell* (*ImmunoStep*)) e respectiva marcação com anticorpo policlonal anti-Apolipoproteína CIII (APOC3) (ABCAM: AB27612), puro, durante 15 minutos, à temperatura ambiente e na ausência de luz. Após incubação, as células marcadas com o anticorpo monoclonal foram lavadas com PBS, por centrifugação a 1000 rpm, durante 5 minutos, ressuspensas em 400 µl do mesmo tampão e armazenadas à temperatura de 4˚C até ao momento de aquisição de dados no citómetro de fluxo.

6.2.5 Quantificação da Expressão de HER2

A expressão de HER2 indica que o gene se encontra amplificado, o que implica uma maior agressividade do tumor e maior probabilidade de metastização tumoral. Doentes com tumores metastáticos que expressam HER2 são candidatos a terapêutica com Herceptin®.[476] A utilização de *trastuzumab* (anticorpo monoclonal utilizado no Herceptin) consiste numa abordagem terapêutica dirigida ao domínio extracelular de HER2/neu, que pode aumentar o tempo de sobrevivência de doentes com tumores que expressam HER2, através de um bloqueio da acção deste receptor.

Para avaliação da expressão membranar de HER2/neu, foram lavadas por centrifugação com PBS, durante 5 minutos, a 1000 rpm, aproximadamente 10^6 células que, posteriormente, foram marcadas com 1µg de anticorpo monoclonal murino anti-HER2/neu (*BDBiosciences:* ref. 340554) puro, durante 15 minutos, à temperatura ambiente e na ausência de luz. Após incubação,

as células marcadas com o anticorpo foram lavadas com PBS, por centrifugação a 1000 rpm, durante 5 minutos, e ressuspensas em 400 µl do mesmo tampão. Estas células foram armazenadas à temperatura de 4˚C até ao momento de aquisição de dados no citómetro de fluxo.[477]

6.3 Estudos Clínicos *in vivo*

Os estudos clínicos de metabolismo celular de cancro da mama incluídos neste trabalho, envolvem a análise visual e quantificação de estudos PET/CT com ^{18}F-FDG, adquiridos no contexto de avaliação clínica e estadiamento de doentes com diferentes subtipos da doença.

O radiofármaco utilizado (^{18}F-FDG) consiste, como já referido anteriormente, num análogo radioactivo da glicose, em que o grupo hidroxilo do carbono 2 de uma molécula de glicose, é substituído por um átomo (isótopo radioactivo) de flúor. Tal como a glicose, a ^{18}F-FDG é captada por células vivas através de um mecanismo de transporte facilitado e, subsequentemente, sofre fosforilação pela hexoquinase. Uma vez que o grupo hidroxilo no carbono 2 constitui um requisito para o prosseguimento do processo de metabolismo ulterior à fosforilação pela hexoquinase, a ^{18}F-FDG não sofre a sequência metabólica que ocorre no interior da célula para a glicose.[478,479] No entanto, a ^{18}F-FDG constitui um bom indicador de captação de glicose e viabilidade celular. A captação de análogos de glicose em células vivas depende, também, de modificações de vários carbonos localizados em posições distintas. Estudos de especificidade de moléculas 3-desoxiglicose (3-DG) e 4-desoxiglicose (4-DG) em relação à hexoquinase demonstraram reduções de cerca de 100 vezes, pelo que a 3-DG e a 4-DG não ficam retidas no interior da célula.[480] Do mesmo modo, também a 3-fluoro-deoxiglicose e a 4-fluoro-deoxiglicose não sofrem tanta acumulação nas células vivas como a ^{18}F-FDG.

Os radioisótopos (átomos instáveis em cujos núcleos se desencadeia o decaimento radioactivo) utilizados em PET, apresentam um curto tempo de semi-vida comparativamente aos radionúclidos da medicina nuclear convencional. Na tabela 7 encontram-se listados os tempos de semi-vida dos isótopos radioactivos mais utilizados em PET. São átomos instáveis que sofrem decaimento de um protão (decaimento β+), do qual resulta um neutrão e a libertação de um positrão e de um neutrino. Ao abandonar o núcleo, o positrão irá colidir com um electrão, aniquilando-se. Dessa aniquilação resulta a libertação de 2 fotões gama de 511 keV de energia.[481,482] A geração de átomos de flúor-18 pode ser obtida pela irradiação de néon-20 com deutério ou de oxigénio-18 com protões, sendo que a maioria dos centros responsáveis pelos ciclotrões utiliza o método de irradiação de oxigénio-18 devido a uma maior simplicidade de gestão processual. Após obtenção de ^{18}F, segue-se a produção de 2-deoxi-2-fluoro-D-glicose (^{18}F), purificação e preparação da solução para injecção.[483]

Tabela 7. Sumário das características físicas dos isótopos radioactivos com maior afinidade biológica e, por isso, mais utilizados em PET:[482,484]

Isótopo	Tempo de Semi-Vida	Energia β^+ (MeV) *	Alcance (mm) **	Precursor
^{11}C	20.4 min.	0.96	4.11	$_{14}N$ (p,α)
^{13}N	9.96 min.	1.19	5.39	$_{16}O$ (p,α)
^{15}O	2.07 min.	1.72	8.2	$_{14}N$ (d,n)
^{18}F	109.8 min.	0.64	2.39	$_{18}O$ (p,n)

* Energia libertada pelo positrão após decaimento β^+.

** Distância percorrida pelo positrão na água, até colidir com um electrão.

Reacções de transferência:
(p,α) – recebe um protão e liberta uma partícula α (2 protões + 2 neutrões).
(d,n) – recebe um deutério (1 protão + 1 neutrão) e liberta 1 neutrão.
(p,n) – recebe um protão e liberta e liberta 1 neutrão.

Na síntese da molécula de ^{18}F-FDG, podem ser utilizadas duas técnicas distintas: reacção de substituição nucleófila ou reacção de adição electrófila.[485] Devido à baixa incorporação de átomos de flúor radioactivo nos precursores, a reacção de adição electrófila utilizada na síntese de ^{18}F-FDG acabou por ser substituída pela reacção de substituição nucleófila representada no esquema da figura 52.[485] A substituição nucleófila é uma reacção química que envolve a adição de uma molécula nucleófila (altamente carregada negativamente), a uma molécula com um grupo livre (grupo electrófilo ligado à molécula mãe por uma ligação química instável). A molécula nucleófila apresenta uma elevada afinidade em relação ao centro relativamente deficiente da molécula mãe, criada pelos electrões do grupo livre. Como resultado, a molécula nucleófila forma uma ligação covalente com a molécula mãe, deslocando o grupo livre. A configuração estérea da molécula mãe sofre, também, alteração. Na síntese de ^{18}F-FDG, é o ião ^{18}F o ião nucleófilo. O precursor é a molécula triflato de manose (1,3,4,6- tetra-O-acetil-2-0 trifluormetanosulfonil-β-D-manopiranose).[485,486]

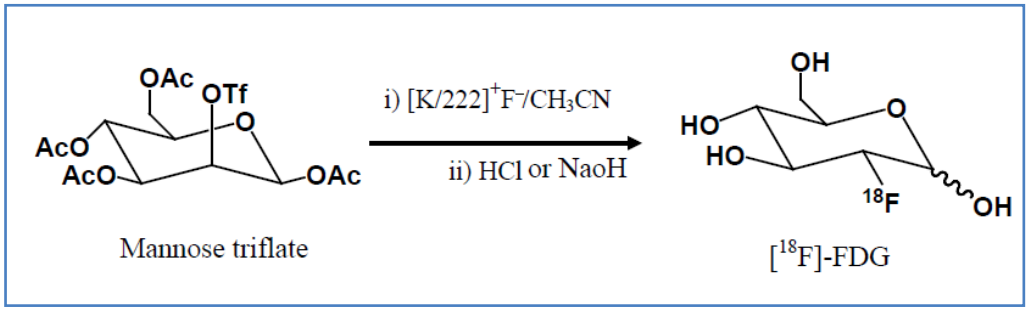


Figura 52. Reacção de substituição nucleófila envolvida na síntese de ^{18}F-FDG.[483]

O fluoreto ^{18}F pode ser obtido com elevada actividade específica (sem adição de transportador), a partir da reacção nuclear de conversão do ^{18}O (n.p.) em ^{18}F usando um alvo de água enriquecida com oxigénio-18. A síntese é obtida por reacção de substituição nucleofílica de manose triflato em módulos automáticos, disponíveis para produção. A produção em grande escala requer o manuseamento de actividade radioactiva na ordem das centenas de MBq (*Megabecquerel*) para produção de quantidades suficientes do composto marcado. As grandes vantagens deste método são: elevada pureza do produto final, tempo de síntese reduzido e redução da exposição dos trabalhadores a radiação.

O fluoreto possui uma elevada energia de hidratação, pelo que a água não constitui um solvente apropriado a esta síntese. Deve, por isso, ser utilizado um solvente polar aprótico, como o acetonitrilo, numa reacção de substituição nucleofílica SN2.[485]O $^{18}F^-$ é obtido pela reacção nuclear $^{18}O(p,n)^{18}F^-$ no Cyclone-30 (IBA), utilizando 2 mL de H218O enriquecida (> 95%) de cinco fornecedores diferentes (*Rotten, Marshall, Cambridge, Trace* e *Isoflex*). [487] No final do bombardeamento é necessário isolar o ião ^{18}F no ambiente aquoso, sendo que a forma mais conveniente envolve a utilização de um de um módulo automático (IBA) por pressão de hélio, com um filtro de luz QMA (do inglês, *Quaternary ammonium anion exchange*), com uma coluna Sep-Pak® (do inglês *Accell Plus QMA Sep-Pak®*). O $^{18}F^-$ é retido por uma reacção de troca iónica, à passagem de 18O-água.[485,487] O ^{18}F- retido é depois eluído utilizando uma solução de acetonitrilo com *Kryptofix* e carbonato de potássio.[485]

Num ambiente aquoso, todos os iões carregados negativamente devem ser acompanhados por "contrapesos" de carga positiva. Normalmente, o $^{18}F^-$ retirado do alvo do ciclotrão é acompanhado por restos de iões metálicos provenientes da superfície do corpo do alvo. Ao passar pelo filtro de luz QMA de troca aniónica, o ião $^{18}F^-$ sofre retenção e os iões metálicos são arrastados pela água $^{18}O^-$. Assim, é necessária a introdução de um ião com carga contrária que reponha a reactividade do $^{18}F^-$ antes da evaporação da água residual enriquecida com $^{18}O^-$.[488] Foram já utilizados vários iões de carga positiva, incluindo grandes iões metálicos como rubídio ou césio. Actualmente, é bastante utilizado um complexo formado entre o ião potássio e uma grande estrutura em anel como o *Kryptofix* 2.2.2™ e sais de tetrabutilamónio (TBA).[488,489] O *Kryptofix* 2.2.2 ™ é um éter cíclico que se liga ao ião potássio, prevenindo a formação de ^{18}F-KF. Assim, o potássio actua como contra ião do $^{18}F^-$, realçando a sua reactividade, mas não interfere na síntese.[485] Dado que o *Kryptofix* 2.2.2 ™ causa apneia e convoluções, todos os módulos de síntese automáticos possuem várias etapas de remoção, de modo a que a quantidade de *Kryptofix* 2.2.2 ™ presente nos produtos finais de ^{18}F-FDG seja negligenciável.[490] Logicamente, a adição de uma contra catião implica a adição de outro anião. O anião carbono é amplamente utilizado, uma vez que tem menor probabilidade de interferir com a síntese.[489]

Após a eluição do $^{18}F^-$, é necessária a evaporação de qualquer água residual da solução. A vantagem da utilização de acetonitrilo como solvente de eluição é a da formação de uma mistura azeotrópica com a água. A evaporação de acetonitrilo numa atmosfera de nitrogénio irá, ao mesmo tempo, remover água residual $^{18}O^-$ que passe com o ^{18}F para o vaso onde ocorre a reacção. A maior parte dos sintetizadores automáticos realizam a etapa de evaporação do acetonitrilo diversas vezes, para garantir a remoção de $^{18}O^-$ residual. Todos os componentes do sistema de síntese são lavados com acetonitrilo, para remover humidade, devendo ser utilizado nitrogénio na síntese molecular, uma vez que contém um conteúdo húmido inferior a 3 ppm.

A reacção de substituição nucleofílica tem lugar nesta fase. Após evaporação de quaisquer moléculas de água residuais, é adicionado o precursor ao $^{18}F^-$. O precursor mais utilizado na síntese de ^{18}F-FDG é a 1,3,4,6-O-acetil-2-O-trifluorometanosulfunil-beta-D-manopiranose (manose triflato), cuja estrutura é similar à da ^{18}F-FDG, à excepção do grupo triflato localizado na posição do carbono 2 e dos grupos acetil nas posições 1,3,4,6 dos carbonos, ligados por ligações éster, que podem ser facilmente destruídas em pH ligeiramente mais elevados ou inferiores. A utilização de grupos acetil visa proteger os grupos hidroxilo, de modo a que não ocorra reacção de fluorinação nestas posições. O ião ^{18}F aproxima-se da manose triflato na posição 2 do carbono, enquanto os grupos triflato saem da molécula de manose para formar ^{18}F-FDG. Após substituição nucleofílica do grupo triflato pelos iões $^{18}F^-$, os grupos acetil são facilmente removíveis por hidrólise, para dar lugar à ^{18}F-FDG. A substituição dos grupos acetil presentes nas posições 1,3,4,6 dos carbonos, pode ser facilmente alcançada pela utilização de ácido hidroclórico (hidrolisação ácida) ou de hidróxido de sódio (hidrolisação base). A primeira requer mais tempo e temperatura mais elevada. A segunda, hidrolisação utilizada por rotina, é mais rápida e decorre à temperatura ambiente. É adicionado hidróxido de sódio à coluna, de modo a que a hidrolisação base ocorre na coluna C-18 de fase inversa. O produto final (^{18}F-FDG) pode ser eluído com água, enquanto os grupos acetil 1,3,4,6 não hidrolisados ou apenas parcialmente hidrolisados protegidos com 2 deoxiglicose, marcada com ^{18}F, permanecem na coluna.

Todos os componentes do kit (precursor, reagentes e acessórios para síntese) são ultrapuros e encontram-se disponíveis para uso imediato. [487] A síntese de ^{18}F-FDG é conseguida em 25 minutos, sendo que o produto final é purificado por uma resina aniónica, num filtro de C18m e alumina. O eluato neutro resultante é esterilizado e dispensado por repartidores em frascos de vidro estéreis, contendo 1.5 mL de solução tampão de fosfato, com pH de 7.5. A irradiação típica de protões de 110 minutos, com energia de 18 MeV e corrente de 30 μA, produz 125,000 – 130,000 MBq de ($^{18}F^-$) - fluoreto.[487] A maioria dos sintetizadores automáticos obtém rendimentos de marcação de 95%.[485]

Os carbonos 1,3,4 e 6 da molécula manose encontram-se protegidos por um grupo acetil e o triflato apresenta-se como o grupo livre no segundo carbono. Na presença de *Kryptofix* 2.2.2™ (amino-poliéter de potássio complexo) como catalisador e acetonitrilo como solvente, o ^{18}F vai

sofrer ligação ao segundo carbono da manose, enquanto o grupo triflato abandona a molécula formando-se, deste modo, um composto intermediário que irá originar a ^{18}F-FDG final por hidrólise, recorrendo a uma base (NaOH) ou a um ácido (HCℓ).[485,486,491]

A purificação da molécula final de ^{18}F-FDG pode ser realizada através de uma série de colunas de trocas aniónicas, coluna C-18 de fase inversa e coluna de alumina. A maior parte dos sintetizadores conseguem produzir ^{18}F-FDG com mais de 95% de pureza, por rotina.

A solução aquosa para administração endovenosa de ^{18}F-FDG contém ^{18}F incorporado na estrutura de 2-deoxy-2-fluoro-D-glicose. Este injectável pode incluir 2-deoxy-2-fluoro-D-glicose como transportador, contendo 90-110% da actividade de ^{18}F marcado na molécula no dia do ensaio. A actividade específica desta solução injectável pode atingir mais de 200 MBq/mg de 2-deoxy-2-fluoro-D-glicose no dia e hora da marcação.[483]

O controlo de qualidade da ^{18}F-FDG deve incluir uma série de testes genéricos realizados de acordo com as *guidelines* de "*The Minimum Requirements for Radiopharmaceuticals*" ou da Farmacopeia Europeia. Esses testes devem garantir a utilização segura do radiofármaco no contexto clínico, devendo ser seguida uma periodicidade pré-determinada e escrupulosamente respeitados os critérios de aceitação, de acordo com o sugerido na tabela 8.[483] Segue-se uma breve descrição dos testes considerados fundamentais na garantia da qualidade deste radiofármaco.

A determinação dos raios gama constitui uma medida dos raios gama e dos raios-X localizados fora do feixe de radiação, emitido a partir dos radionúclidos em estudo. Estes testes envolvem a utilização de um espectrómetro gama utilizado na identificação de radionúclidos, na detecção de impurezas radionuclídicas e na determinação das respectivas actividades de radiação. Medidas do espectro de raios gama identificam núclidos e detectam impurezas radionuclídicas utilizando um espectrómetro gama, medindo e comparando o espectro de raios gama do radiofármaco, com o espectro padrão correspondente a esse radionúclido. Medidas do tempo de semi-vida envolvem também a utilização de espectrómetros gama, contadores de poço ou câmaras de ionização.[483]

Os testes para avaliação da presença de endotoxinas bacterianas pretendem detectar a presença destes microrganismos com base em reacções de coagulação de sangue que ocorrem quando estas bactérias, derivadas de bactérias gram-negativas activam a componente sanguínea celular LAL (*Limulus amebocyte lysate*). Estes testes podem ser conduzidos de acordo com uma das seguintes técnicas: técnica de coagulação de gel, baseada na formação de coágulos, técnica turbidimétrica, baseada em alterações de turbidez ou técnica cromogénica, baseada na variação de cor implicada na hidrólise do substrato cromogénico. Caso o resultado deste teste seja inconclusivo, deve ser utilizada a técnica de coagulação de gel para avaliação final. Uma vez que a coagulação em gel de LAL pode ser desencadeada por certos tipos de polissacarídeos, estes testes devem ser conduzidos de forma a evitar qualquer contaminação por microrganismos.[483,485,492]

Tabela 8. Critérios de Qualidade para a Síntese da molécula de ^{18}F-FDG e Frequência Proposta para Realização dos Testes:[483]

N.º	Teste CQ	Critério de Aceitação	Frequência do Teste	
			Instalação GMP	**A Nível Interno**
1	Aparência	Límpido, incolor e ligeiramente amarelo	Para cada lote	Para cada lote
2	pH	5.0 - 8.0	Para cada lote	Para cada lote
3	Identidade Radionuclídica	Tempo de semi-vida: 105-115 minutos	Para cada lote	Para cada lote
4	Pureza Radioquímica	> 95% (Radio-TLC)	Para cada lote	Para cada lote
5	*Kryptofix* 2.2.2	<50 µg/mL	Para cada lote	Para cada lote
6	Solventes Residuais	< 0.04% Acetonitrilo < 0.5% Álcool < 0.5% Éter	Para cada lote	Duas vezes por ano
7	Endotoxinas Bacteriológicas	150EU/V	Para cada lote	Para cada lote
8	Esterilidade	Satisfazem o teste	Para cada lote	Para cada lote
9	Integridade da Membrana do Filtro	>50 psi	Para cada lote	Desnecessário
10	Pureza Radionuclídica	>99.5% (511, 1022 MeV)	Duas vezes por ano	Desnecessário
11	Actividade Específica	Nenhum transportador adicionado	Desnecessário	Desnecessário
12	CIDG	<1.0mg/V	Duas vezes por ano	Desnecessário
13	Ião Alumínio	<10µg/mL	Desnecessário	Desnecessário
14	Osmolaridade	-	Desnecessário	Desnecessário

Testes de esterilidade podem ser conduzidos através de sistemas de cultura de sangue. Estes sistemas avaliam a presença de bactérias numa amostra, através da observação do fluxo de meio de cultura de um recipiente de cultura para o reservatório de sinais de crescimento, conectados por uma agulha fina, reflectindo um aumento da pressão positiva do frasco de cultura, como resultado da presença de metabolismo bacteriano com produção de compostos gasosos.[483,485]

Técnicas de análise de factores que afectam o controlo de qualidade da solução injectável e que apresentam índices relativamente elevados de precisão, incluem métodos de avaliação de pureza radioquímica, de pureza química e de actividade específica e ainda métodos de detecção

de impurezas químicas. A pureza radioquímica é determinada pela monitorização do sinal de radiação emitido a partir do detector acoplado a séries de *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) ou por medidas de distribuição em detectores de radiação ou de imagem após separação por *Thin Layer Chromatography* (TLC).[483,485,493,494] A avaliação da pureza química pode ser efectuada por HPLC, sendo que, para avaliar a actividade específica da molécula de ^{18}F-FDG sintetizada pelo método de transportador livre do ião fluoreto, é necessário um detector electroquímico de alta sensibilidade. Esse detector deve ser capaz de conduzir análises de elevada sensibilidade a sacarídeos em modo amperométrico. O limite quantitativo de ^{18}F-FDG é de 30 a 50 ppb.[483]

A avaliação de impurezas químicas envolve o teste de *Kryptofix* 2.2.2. Os criptandos são uma família de ligandos sintéticos, multidentados, bi ou policíclicos para uma variedade de catiões. Muitos criptandos estão comercialmente disponíveis sob a marca registada *Kryptofix*. O método TLC é adequado à detecção de *Kryptofix* 2.2.2, durante a produção de ^{18}F-FDG, pelo método do ião fluoreto. O limite de detecção é de cerca de 30 ppm. De notar que o *Kryptofix* 2.2.2 raramente é detectado, em condições normais, durante o processo de produção, se for utilizada na purificação da molécula de ^{18}F-FDG a resina de troca iónica positiva AG50W-X8.[483,485,492,495,496]

A determinação da presença de ião alumínio é necessária quando utilizada uma coluna de alumina na purificação de ^{18}F-FDG. Neste caso, é necessário colocar uma gota de solução de ^{18}F-FDG numa placa de teste e verificar se a mesma fica roxa quando tratada com uma gota de cada um dos reagentes amoníaco e solução de sulfonato de alizarina, sem ficar vermelha quando acidificada com ácido acético. O limite de detecção é de cerca de 0.65 mg (aproximadamente 0.02 ppm). Não é detectada a presença do ião alumínio quando a molécula preparada é neutra em condições normais.[483,485,492,493]

Deve também ser avaliada a presença de metanol, etanol ou acetonitrilo, resíduos solventes que podem ser encontrados na solução injectável de ^{18}F-FDG e cuja presença depende bastante do método de produção. O etanol e o acetonitrilo são contaminantes relativamente comuns, mas a presença de metanol e éter é rara.[483]

6.3.1 Estudos PET/CT

A PET constitui uma modalidade imagiológica não invasiva, capaz de detectar raios gama emitidos por isótopos emissores de positrões e que apresenta forte impacto no diagnóstico e tratamento de doença oncológica, constituindo ainda uma importante ferramenta de investigação. Esta técnica proporciona aos clínicos uma perspectiva funcional e bioquímica do organismo humano, baseada na biologia molecular dos tecidos corporais, que se encontra virtualmente alterada em todos os processos de doença. Utiliza pequenas quantidades de materiais radioactivos

(radiotraçadores ou radiofármacos) para diagnosticar diversas patologias, fornecendo imagens tridimensionais do organismo humano.[497] É uma técnica minimamente invasiva, sendo a dose absorvida média por cada doente semelhantes à de outras técnicas, como por exemplo da CT. Constitui uma tecnologia muito sensível e de elevada precisão, capaz de detectar alterações funcionais prévias às alteração estruturais passíveis de detecção por sistemas de CT e RM, cuja resolução espacial é incomparavelmente superior à da PET, apesar das suas diversas vantagens. A fusão das imagens anatómicas da CT com as imagens funcionais da PET traz, por isso, vantagens incontestáveis.

A PET apresenta diversas aplicações, desempenhando um papel preponderante na área da oncologia, sobretudo ao nível da avaliação do metabolismo energético celular (diagnóstico), da detecção e avaliação funcional de tumores e metástases (estadiamento), na avaliação da eficácia de resposta à terapêutica, no *follow up* dos doentes, no planeamento da radioterapia e no estudo de doentes com metástases de tumor de origem desconhecida.

Assim, pode considerar-se como princípio fisiológico que fundamenta a utilização desta técnica, o facto de a PET com ^{18}F-FDG fornecer informações funcionais, bioquímicas e fisiológicas sobre os tumores, baseando-se no facto de as células cancerígenas serem hipermetabólicas, apresentando níveis anormalmente elevados de consumo de glicose. Estas células apresentam hiper-regulação de um complexo genético, responsável pelo aumento da vascularização das células tumorais e pela sobrexpressão de transportadores transmembranares da glicose. Estes factores são responsáveis por um aporte anormalmente elevado de glicose para o interior das células cancerígenas.

Para realização do exame PET com ^{18}F-FDG, é necessária uma preparação do doente que envolve jejum de 6 horas e ausência de actividade física intensa no dia anterior e no próprio dia de realização do exame. Neste dia, é administrado o radiofármaco (^{18}F-FDG) por via endovenosa e, após a administração, o doente é submetido a um período de biodistribuição (período de tempo necessário para que a ^{18}F-FDG se distribua pelo organismo, sofrendo acumulação nas zonas de interesse e/ou de distribuição normal), que varia entre 45 e 60 minutos. Durante este intervalo de tempo, é recomendado repouso absoluto ao doente e, só depois, é possível a aquisição de imagens na câmara PET.

Os radionúclidos utilizados nos estudos PET (neste caso, ^{18}F-FDG) oferecem a possibilidade única de obtenção de imagens tomográficas que são reconstruídas a partir da detecção de emissões simultâneas de dois fotões de 511 keV, que têm origem na molécula marcada emissora de protões. Num tomógrafo PET, a detecção ocorre num detector em anel. Aqui, os detectores de cintilação encontram-se configurados de forma a formarem um anel fixo em torno do doente. A PET abriu um novo e amplo campo diagnóstico, ao permitir a quantificação *in vivo* do metabolismo dos tecidos.[326]

Ao decair, o radioisótopo emite um positrão (antipartícula do electrão, com carga oposta) de energia cinética média da ordem de 1 MeV e também um neutrino (partícula com carga neutra e massa extremamente pequena, interagindo de forma fraca com a matéria). Após percorrer algumas fracções de milímetros de tecido, os positrões encontram electrões, levando à aniquilação de ambos, evento que origina a libertação de um par de fotões gama de 511 keV (equivalente à massa de repouso de um electrão), de acordo com a representação da figura 53. Dado que o electrão e o positrão são as partículas mais leves de entre todas as partículas (com excepção dos neutrinos), a aniquilação de ambos pode apenas resultar na produção de fotões (m=0).[498–500]

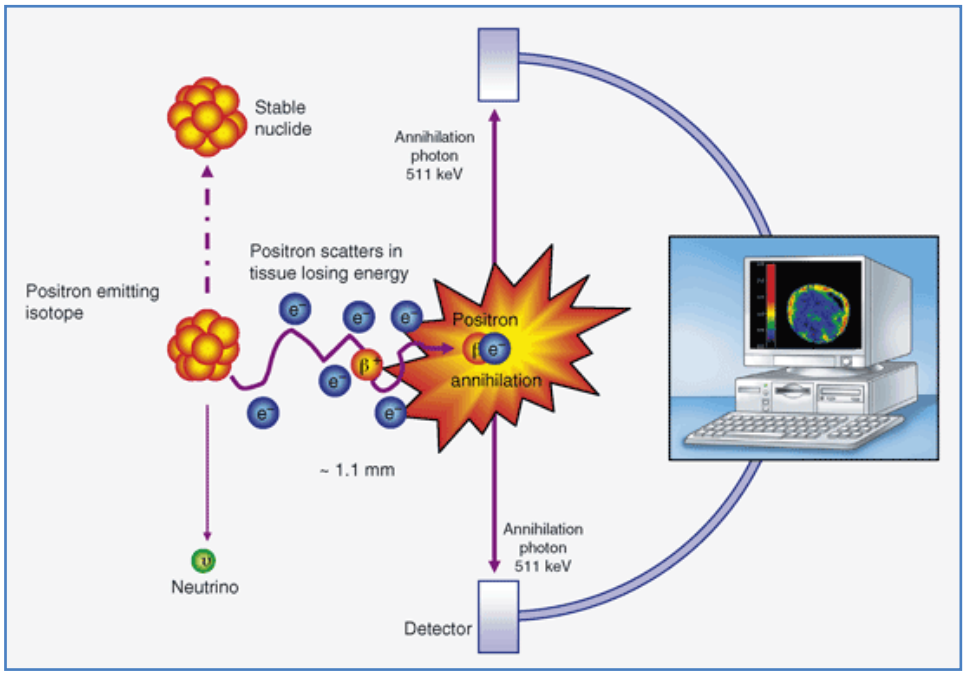


Figura 53. Decaimento do protão com emissão de um neutrino e de um positrão, que se aniquila após colisão com um electrão, produzindo dois fotões gama. Os fotões produzidos são detectados num detector de coincidência, dando, posteriormente, origem à produção da imagem PET.[501]

Os fotões resultantes da aniquilação possuem uma correlação angular entre si, que resulta da conservação do momento linear. Assim, se a aniquilação se efectuasse com o positrão e electrão em repouso, os dois fotões seriam emitidos anti-paralelamente (com um ângulo relativo entre si de 180º). No entanto, diversos efeitos físicos contribuem para o alargamento da distribuição angular, tendo assim grande importância a resolução angular dos detectores usados.[482] Os fotões são detectados quando colidem com um anel de detectores que rodeia o doente. Esses detectores, revestidos com cristais cintiladores que, quando excitados, emitem luz,

captam múltiplas imagens bidimensionais, obtidas em pontos definidos (normalmente a cada 3-6 graus).[498] Assim, em PET não são utilizados colimadores de chumbo acoplados ao detector de radiação. Em vez disso, é usado um circuito de coincidência para detectar os raios gama provenientes dos isótopos emissores de positrões. Assumindo que é colocado um anel de detectores em torno da área de interesse do doente, quando dois cristais de detector são atingidos ao mesmo tempo, sabe-se que o radionúclido emissor se encontra em determinada localização, situada na linha recta que liga esses dois cristais, conforme ilustrado na figura 54. Na realidade, os eventos são considerados simultâneos quando ocorrem dentro de um intervalo de tempo, denominado janela de tempo, que pode variar entre 6 e 12 ns, consoante o equipamento utilizado. Esse intervalo temporal é, em parte, devido ao tempo gasto em processos electrónicos que ocorrem no interior do aparelho.[491]

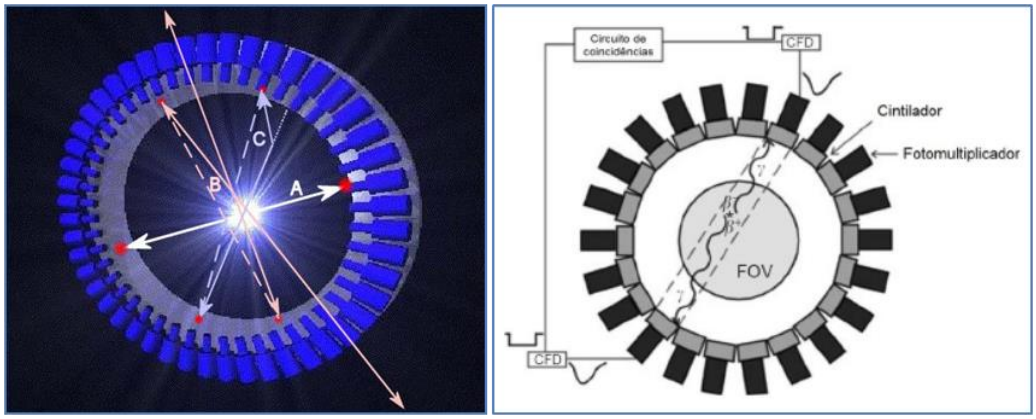


Figura 54. Anel de um *scanner* rodeado por detectores de cintilação acoplados a fotomultiplicadores. Um evento de aniquilação ocorre no campo de visão (FOV, do inglês *Field of View*) e produz dois raios gama que são detectados por um par de detectores. Cada par de detectores é conectado pelo CFD (do inglês *Constant Fraction Discriminators*) e pelo circuito de detecção de coincidências.[498,502]

Os fotões gama provenientes da aniquilação do mesmo positrão, produzem sinais coincidentes no tempo. Para garantir que os dois fotões detectados são correlacionados é, portanto, necessária a utilização de sistemas de coincidências. Os detectores ligados electronicamente permitem, portanto, determinar se a radiação registada por cada um foi emitida simultaneamente ou com uma pequena diferença de tempo, ou seja, permitem detectar essas coincidências. Através da linha de coincidências, também conhecida por LOR (do inglês *Line of Response* ou linha de resposta), é possível localizar (pelo menos numa dimensão) a fonte de emissão de cada par de fotões detectados. A definição de uma LOR pressupõe, portanto, que a aniquilação se deu na recta assim determinada, não se conhecendo, contudo, a posição exacta da

mesma. Câmaras PET que possuam informação de tempo de voo (TOF, do inglês *Time of Flight*), permitem diminuir a incerteza de posicionamento da aniquilação numa dada linha de resposta e, portanto, permitem melhor qualidade de imagens. Todos os fotões que não se encontrem emparelhados são ignorados. Um volume PET normal é composto por milhões de contagens para toda a aquisição.[482] No final do processo de aquisição, os eventos são geralmente agrupados em sinogramas (conjuntos de projecções), a partir dos quais se obtêm, com maior frequência, imagens 2D que, justapostas, contêm informação 3D, estrutural e funcional, dos órgãos e tecidos do organismo, tal como caracterizado pelo esquema da figura 55. Um sinograma corresponde a um histograma bidimensional das coordenadas (distância e ângulo) das LORs.[482,499]

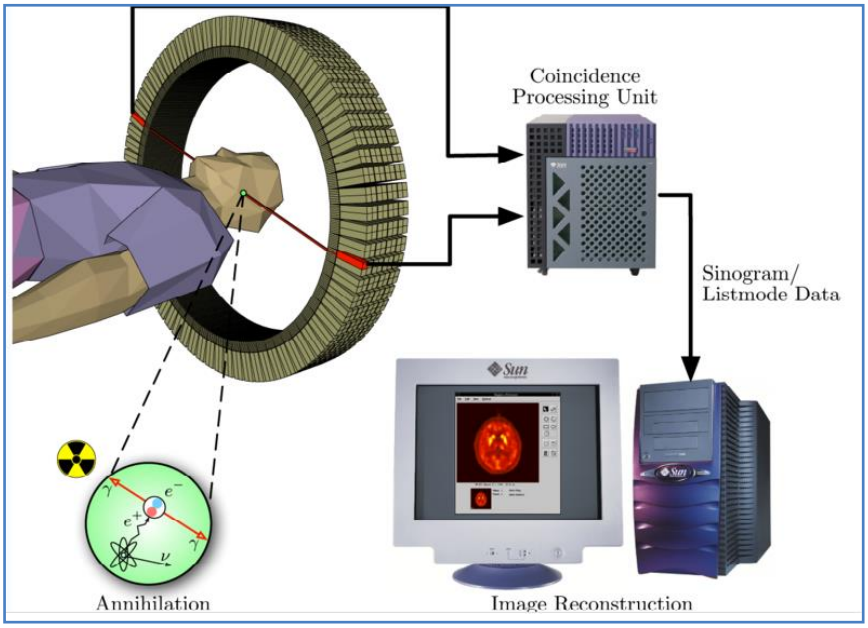


Figura 55. Fases do processo de aquisição de um estudo PET.[503]

Num estudo PET a taxa de ocorrências resulta da soma de três tipos de acontecimentos físicos durante a aquisição: i) coincidências verdadeiras (as que constituem o verdadeiro sinal), ii) coincidências fortuitas (em que os dois fotões detectados são provenientes de dois decaimentos β^+ diferentes, ou seja, duas aniquilações distintas), iii) *scattering* (em que os dois sinais coincidem no tempo mas a energia de um ou de ambos os fotões é inferior a 511 keV). Os acontecimentos ii) e iii) irão, assim, contribuir para a presença de ruído nas imagens. Os sistemas PET actuais dão, portanto, margem à ocorrência de coincidências fortuitas, ou seja, dois eventos independentes, que ocorreram em instantes muito próximos, porém em locais distintos, podem ser considerados como uma aniquilação. O número de coincidências fortuitas é proporcional à janela de tempo do equipamento e às taxas de contagem de cada detector. A segunda fonte de erro

que pode ocorrer é devida ao facto de um fotão sofrer dispersão (*scattering*) no percurso rumo ao detector, o que faz com que seja calculada uma linha de resposta errada. Neste tipo de dispersão, resultado de efeito *Compton*, o fotão perde parte da sua energia, problema que seria resolvido se fosse possível ao detector uma estreita janela de energia em torno de 511keV, que rejeitasse fotões com energias diferentes. Na prática esta correcção não seria viável, uma vez que muitos eventos verdadeiros seriam igualmente rejeitados, pelo facto de os fotões sofrerem também *scattering* ao interagir com o cristal do detector, perdendo parte da sua energia. Além disso, o detector possui uma resolução de energia finita, que pode variar, dependendo do equipamento, entre 10 e 25%. São, portanto, considerados fotões localizados dentro de uma janela de energia de 300 - 650 keV, valores que podem variar de acordo com o equipamento. Esses erros introduzem ruído e prejudicam o contraste e a qualidade da imagem. Para reduzir o ruído proveniente de ii) é possível melhorar a resolução em tempo, e para reduzir o ruído oriundo de iii), é possível melhorar a resolução em energia dos detectores.[498] O sistema de detecção PET apresenta maior eficiência de detecção e resolução, bem como uma vantagem de 100 vezes relativa ao ângulo sólido, em comparação com o sistema de detecção com colimador usado em SPECT. A questão do ângulo sólido diz respeito ao facto de nem todos os fotões serem emitidos em direcções assinaláveis pelos detectores.[502] Outras fontes de erro em PET são o ângulo não nulo entre as direcções seguidas pelos dois fotões, que pode ser de até 0.25 e o facto de o positrão progredir alguns milímetros antes de se aniquilar com um electrão. No caso da ^{18}F-FDG, a distância máxima percorrida pelo positrão no interior do organismo humano antes de se aniquilar é de 2.6 mm.[502]

Os estudos PET/CT incluídos no presente trabalho foram adquiridos num tomógrafo PET/CT de 4 cortes, Discovery ST4 da GE *Medical Systems*. A actividade administrada foi ajustada ao peso do doente (4-6 MBq/kg) e a aquisição iniciada entre 45 e 60 minutos após administração do ^{18}F-FDG. A aquisição PET foi de 3min/campo e os parâmetros da CT de baixa dose obedeceram ao seguinte protocolo: 120kV; 30-80mAs (dependente do doente); <0.5 segundos de rotação do tomógrafo; 3 a 5 mm de espessura dos cortes reconstruídos, sem sobreposição; e algoritmo *standard* de reconstrução. Todos os doentes obedeceram a um período de jejum de 6h. Foi efectuada quantificação da glicémia em todos os doentes e aplicadas medidas de correcção a indivíduos com valores de glicémia >200mg/dl, antes da administração do radiofármaco. As medidas de correcção incluiram tomar uma refeição e, quando adequado, administração de antidiabéticos orais, e aguardar que os níveis glicémicos normalizassem, antes da administração do radiofármaco. Doentes insulino-dependentes foram tratados caso a caso, consoante o tipo de insulina utilizada, antes de receberem administração do radiofármaco. Foi recomendada a ausência de actividade física intensa no dia anterior e no próprio dia de realização do exame a todos os doentes e, após a administração, os mesmos foram submetidos a um período de biodistribuição, em repouso absoluto e ambiente calmo, que variou entre 45 e 60 minutos, como supramencionado.

6.3.2 Cálculo dos SUV

Após a realização de um exame PET e aquisição das respectivas imagens, é necessária uma análise qualitativa (visual) e quantitativa dos dados. A análise quantitativa permite uma melhor avaliação do estudo, constituindo um índice quantificável ou semi-quantitativo, obtido a partir da análise das imagens PET. Essa análise pode ser feita, de entre outros, por análise espectral, por MTGA (do inglês *Multiple-Time Graphical Analysis*) ou recorrendo ao FUR (do inglês *Fractional Uptake Rate*), também conhecido por índice de retenção. No entanto, o índice utilizado com maior frequência, nomeadamente para estudos PET com ^{18}F-FDG, é o SUV.[504] Este índice, por vezes também denominado como DUR (do inglês *Dose Uptake Ratio*) é um índice semi-quantitativo, fácil de obter e amplamente utilizado, permitindo distinguir tecidos de alta e baixa malignidade, bem como diferenciar tecidos malignos de benignos, recorrendo à análise do metabolismo da ^{18}F-FDG.[505,506] É uma técnica que não requer amostra de sangue nem técnicas de imagem dinâmicas. Tem de ser realizado num instante específico do tempo, e sempre nesse preciso instante, caso os resultados sejam para comparação.[505] Os SUVs representam a concentração de actividade por centímetro cúbico de tecido, sendo normalizados em função da actividade injectada (mCi (*millicurie*) ou MBq no instante t=0) e da massa corporal do doente (em kg).[505,507] Se a actividade fosse uniformemente distribuída no corpo, sem perdas, e corrigida para decaimento, o valor de SUV seria 1. O SUV é normalmente calculado sobre uma ROI (do inglês, *Region of Interest*) para cada imagem de uma série. É influenciado por diversos factores, o que torna a sua interpretação potencialmente errónea. Depende da selecção da ROI, da duração da aquisição, sendo também afectado pelo ruído e pela baixa resolução da imagem.[508]

A resposta de um tumor à terapêutica instituída é geralmente avaliada através de ^{18}F-FDG-PET, com recurso ao cálculo do SUV. Este, é calculado no *pixel* de maior intensidade, no corte com maior concentração de contagens (SUV_{max}), ou estabelecendo uma ROI fixa na área com maior captação de ^{18}F-FDG (SUV_{peak}). Por outro lado, o volume do tumor pode ser estimado usando um limiar adaptativo ou semi-adaptativo, através do cálculo do $SUV_{médio}$ correspondente ao volume tumoral (GMTV, do inglês *glucose metabolic tumor volume*).[505,509] O parâmetro SUV é, assim, uma medida útil para analisar imagens ^{18}F-FDG-PET, sendo, no entanto, necessário algum cuidado que envolve uma constante consideração pelas suas limitações e consequente implicação nos resultados. A supremacia desta técnica sobre outras eventualmente mais fidedignas (por exemplo a FUR) é devida, sobretudo, ao facto de não implicar recorrer a amostras de sangue.[505]

6.3.3 Imunohistoquímica

A imunohistoquímica (IHQ) é um conjunto de técnicas que permite a identificação individual de constituintes celulares *in situ*, isto é, no próprio corte histológico. A especificidade da reacção antigénio-anticorpo constitui a base molecular das técnicas de IHQ. Os antigénios são detectados por anticorpos associados a substâncias (marcadores) que tornam visíveis os locais onde ocorre a reacção antigénio-anticorpo, tal como representado na figura 56. O sucesso de qualquer técnica de IHQ depende de dois factores cruciais e, por vezes, antagónicos: a adequada preservação morfológica dos tecidos/células e a retenção da antigenicidade das moléculas a pesquisar.[510]

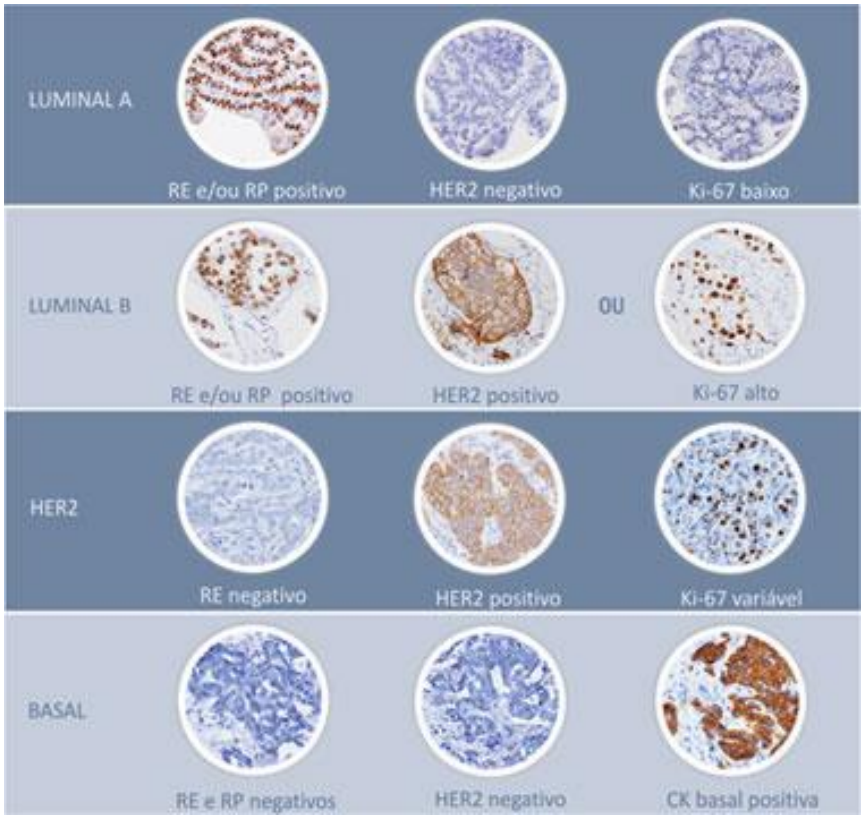


Figura 56. Classificação molecular do carcinoma da mama através de IHQ.[511]

A fixação é uma das mais importantes fases da técnica IHQ. A sua função é preservar os tecidos, mantendo-os o mais próximo possível das características *in vivo*. Tal é conseguido, de um modo geral, mergulhando os tecidos a fixar numa solução fixadora. O fixador previne a autólise por inibição das enzimas dos lisossomas, inibe o crescimento dos fungos e bactérias que podem promover reacções de putrefacção e protege os tecidos e as células das agressões do

procedimento histológico e coloração. Os fixadores actuam desnaturando as proteínas por diferentes processos (coagulação, formação de compostos adicionados ou uma mistura dos 2 processos referidos) e levam, consequentemente, a uma alteração na conformação das proteínas, que resulta na inactivação das enzimas. Os compostos resultantes dos processos de fixação diferem dos compostos iniciais nos aspectos químicos e antigénicos. A fixação provoca ainda outras alterações nos aspectos físicos do tecido: destrói a capa impermeável em torno das células tornando-as permeáveis a diversas macromoléculas que podem então entrar ou sair.[512]

A preservação dos detalhes estruturais pode ser obtida por congelamento dos tecidos em azoto líquido ou através da utilização de fixadores químicos. Existem vários tipos de soluções fixadoras, salientando-se as aldeídicas (formaldeído, paraformaldeído, glutaraldeído, etc.), as alcoólicas (Carnoy, Metacarn, etc.) e as que contêm metais pesados, como zinco e mercúrio.[510]

O Formaldeído é o mais simples dos aldeídos, também designado de metanal, utilizado em laboratório sob a forma de gás a 37-39% em solução aquosa, a que se dá o nome de formol. É o fixador mais utilizado nos laboratórios de anatomia patológica, concentrado a 10% (pode também ser tamponado para manter o pH). Ao nível celular, o formaldeído parece possuir a capacidade de fomentar o estabelecimento de pontes de metileno entre os aminoácidos de várias proteínas, alterando a sua forma e contribuindo para a sua inactivação funcional. Nesta reacção parecem estar também implicados os iões Ca2+.[512]

Embora indispensável na técnica histológica, a fixação afecta directamente a aplicação de IHQ, podendo "mascarar" alguns antigénios e impedir o seu reconhecimento pelo anticorpo. Os efeitos negativos causados pelo formol podem ser minimizados com a aplicação das condições ideais de fixação, pois a capacidade de afectar os antigénios não depende somente do fixador utilizado mas também das condições da fixação, como o pH, temperatura, tempo de espera entre colheita de material e fixação, tamanho dos fragmentos a fixar, duração da fixação, entre outros.

Para além da fixação, também o processamento histológico pode provocar alterações ao nível dos antigénios, principalmente devido ao aquecimento do tecido na impregnação e inclusão, tornando-se então necessária a recuperação antigénica.[512]

O processo de recuperação antigénica pode ser realizado através de métodos enzimáticos e não enzimáticos. Os processos enzimáticos empregam proteases como a tripsina, a pronase, a proteinase K ou a pepsina, que levam à destruição indirecta das ligações induzidas pela fixação (pontes de metileno), expondo assim antigénios que estavam obstruídos ou mascarados pelas alterações estruturais decorrentes da fixação. Os métodos de recuperação antigénica não enzimáticos envolvem o aquecimento a altas temperaturas, mergulhando as lâminas contendo os cortes dos tecidos em soluções tampão. Actualmente, os métodos de aplicação de calor variam desde o uso de microondas até à panela de pressão, autoclave ou banho-maria. O sucesso da recuperação antigénica pelo calor depende, essencialmente, das condições de aquecimento, por sua vez relacionadas com a temperatura e o tempo de recuperação, e do pH da solução de

recuperação antigénica utilizada.[510] O efeito de recuperação antigénica é atingido devido à transferência de energia resultante do aquecimento, que para além de quebrar as ligações Proteína-Proteína, quebra também as ligações entre os iões cálcio e os aminoácidos (nesta última reacção, podem também estar envolvidos agentes quelantes existentes na solução de recuperação). Por vezes é necessário uma combinação de dois métodos de recuperação antigénica para se atingirem os resultados pretendidos (digestão enzimática + tratamento térmico).

São, essencialmente, dois os métodos empregues em IHQ: o método directo e o método indirecto. No método directo, o antigénio é detectado por um anticorpo (anticorpo primário) associado a uma marcador (fluorocromos, enzimas...). No método indirecto, a detecção do antigénio é feita a partir da acção sequencial de dois anticorpos, em que o primeiro (anticorpo primário) é dirigido contra o antigénio e o segundo (anticorpo secundário) contra o primeiro anticorpo. Neste caso, o anticorpo secundário está associado a um marcador que permite a visualização do local da reacção antigénio-anticorpo.[513]

Os métodos imunohistoquímicos utilizam, assim, complexos moleculares que se ligam a estes anticorpos permitindo a sua amplificação, possibilitando a sua visualização ao microscópico óptico comum.

Existem diferentes anticorpos disponíveis no mercado para realização do teste imunohistoquímico, sendo que cada um deles é direccionado a uma porção diferente da molécula (antigénio) e preparado a partir de animais diferentes. Também os sistemas de detecção variam, de modo que a sensibilidade da reacção depende do método utilizado.

As técnicas de Imunocitoquímica são uma ferramenta poderosa ao dispor do diagnóstico anatomo-patológico e da investigação. O prognóstico e a indicação terapêutica são muito condicionados pelo recurso a estas técnicas. De um modo geral, já são conhecidos e estudados os diferentes antigénios que podem ser expressados pelos diferentes tipos de patologias, sendo necessário, muitas vezes, detectar a sua existência para confirmar a patologia correspondente.

O estudo do HER-2, ER e PR em tecido mamário, em estudo no presente trabalho, foi realizado de forma automatizada (Ventana Ultra) com recurso a técnica IHQ de acordo com os seguintes protocolos:

I. Protocolo de Imunomarcação do HER-2:

1. Aquecer a lâmina a 74˚C e incubar durante 12 minutos;
2. Para a desparafinação, aquecer a lâmina até 72˚C a partir de temperaturas médias;
3. Aquecer a lâmina até 95˚C e incubar durante 8 minutos com a solução *Ultra Conditioner #1*;
4. 20 minutos de ULTRA CC1;

5. 36 minutos de ULTRA CC1;
6. Aquecer a lâmina até 37°C e incubar durante 4 minutos com o anticorpo (HER2 4B5);
7. Aplicar uma gota de anticorpo (HER2 4B5), aplicar o coverslip e incubar durante 16 minutos;
8. Aplicar 1 gota de *Ultrablock*, aplicar o coverslip e incubar durante 4 minutos;
9. Aplicar uma gota de *Hematoxylin* (contrastante), aplicar o coverslip e incubar durante 8 minutos;
10. Aplicar uma gota de *Bluing Reagent* (pos-contrastante), aplicar o coverslip e incubar durante 4 minutos.

II. Protocolo de Imunomarcação de ER:

1. Aquecer da lâmina a 72°C e incubar durante 4 minutos;
2. Para a desparafinação, aquecer a lâmina até 72°C a partir de temperaturas médias;
3. Aquecer a lâmina até 95°C e incubar durante 8 minutos com a solução *Ultra Conditioner #1*;
4. 20 minutos de ULTRA CC1;
5. 36 minutos de ULTRA CC1;
6. Aquecer a lâmina até 37°C e incubar durante 4 minutos com o anticorpo (ER SP1);
7. Aplicar uma gota de anticorpo (ER SP1), aplicar o coverslip e incubar durante 24 minutos;
8. Aplicar 1 gota de *Ultrablock*, aplicar o coverslip e incubar durante 4 minutos;
9. Aplicar uma gota de *Hematoxylin* (contrastante), aplicar o coverslip e incubar durante 8 minutos;
10. Aplicar uma gota de *Bluing Reagent* (pos-contrastante), aplicar o coverslip e incubar durante 4 minutos.

III. Protocolo de Imunomarcação de PR:

1. Aquecer da lâmina a 72°C e incubar durante 4 minutos;
2. Para a desparafinação, aquecer a lâmina até 72°C a partir de temperaturas médias;
3. Aquecer a lâmina até 95°C e incubar durante 8 minutos com a solução *Ultra Conditioner #1*;
4. 20 minutos de ULTRA CC1;

5. 36 minutos de ULTRA CC1;
6. Aquecer a lâmina até 37˚C e incubar durante 4 minutos com o anticorpo (anti-PR (1E2));
7. Aplicar uma gota de anticorpo (anti-PR (1E2)), aplicar o coverslip e incubar durante 28 minutos;
8. Aplicar 1 gota de *Ultrablock*, aplicar o coverslip e incubar durante 4 minutos;
9. Aplicar uma gota de *Hematoxylin* (contrastante), aplicar o coverslip e incubar durante 8 minutos;
10. Aplicar uma gota de *Bluing Reagent* (pos-contrastante), aplicar o coverslip e incubar durante 4 minutos.

A quantidade de receptores presente nos tumores é relacionada com o sucesso da resposta ao tratamento hormonal. Tumores com mais de 1% de células positivas para ER ou PR são considerados positivos, tal como representado nas figuras 57 e 58 (IHQ de ER e PR, respectivamente). Sabendo que quanto mais células tumorais forem positivas para o receptor, maior a probabilidade de resposta ao bloqueio hormonal, os tumores mais favoráveis para aplicação de terapêutica hormonal são aqueles com elevada expressão de receptores hormonais. No relatório anátomo patológico é fornecida a informação relativa à concentração de receptores através de vários índices, como a percentagem de células positivas, ou a associação entre esta percentagem e a intensidade de coloração (sistema de *Allred*), ou ainda, através da associação da avaliação de possível heterogeneidade tumoral, incluindo exame das diferentes áreas do tumor com diferentes padrões de expressão (*score* H). O sistema de *Allred* atribui *scores* de 0 a 5 para as percentagens de células positivas, e de 1 a 3 para a intensidade de coloração, de modo que o resultado final varia de 0 (negativo) até 8. O *score* H avalia a percentagem de células fracamente positivas, de células com positividade moderada e de células intensamente positivas. Estas percentagens são multiplicadas por 1, 2 e 3, respectivamente. A soma destes valores resulta no *score* H, que varia de 0 a 300, sendo que valores abaixo de 50 são considerados praticamente negativos devido à baixa probabilidade de resposta favorável à terapêutica.

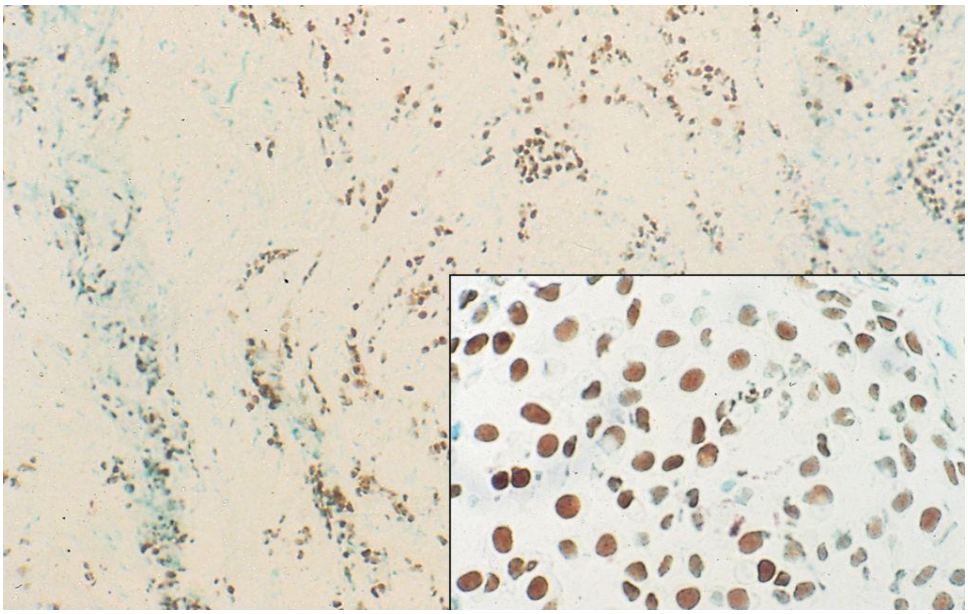


Figura 57. Marcação de ER, por IHC, num caso de carcinoma da mama.[514]

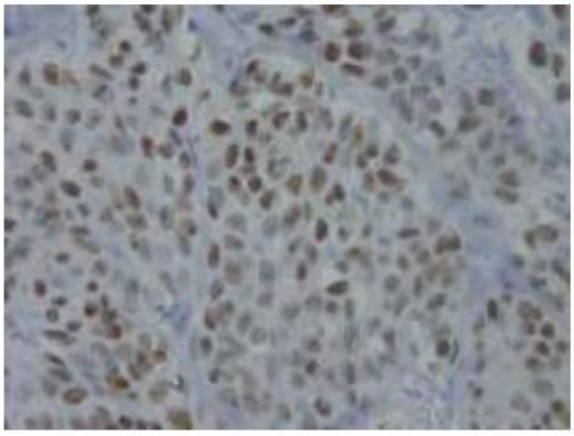


Figura 58. Marcação de PR, por IHC, num caso de carcinoma da mama (HRP, 400x).[512]

O valor do teste para determinação dos receptores hormonais prende-se com a orientação quanto às possibilidades de resposta à terapêutica hormonal e com a possibilidade de indicação da melhor estratégia de tratamento. Para um teste adequado é necessário garantir amostras adequadas do tumor, no que diz respeito a condições de fixação e condições técnicas ideais de realização do teste imunohistoquímico, que possibilitem a quantificação correcta dos resultados, e a incorporação no relatório de outras informações importantes para a decisão terapêutica, como a taxa de proliferação celular, ausência ou presença de baixos valores de PR e a amplificação do oncogene HER2, representada na figura 59.

Os resultados do teste podem variar ligeiramente entre laboratórios, dependendo de determinados factores técnicos, como do anticorpo utilizado, ou do grau de subjectividade na

quantificação das células positivas. Tais variações não devem, no entanto, ser amplas ao ponto de influenciar a categorização biológica do tumor.

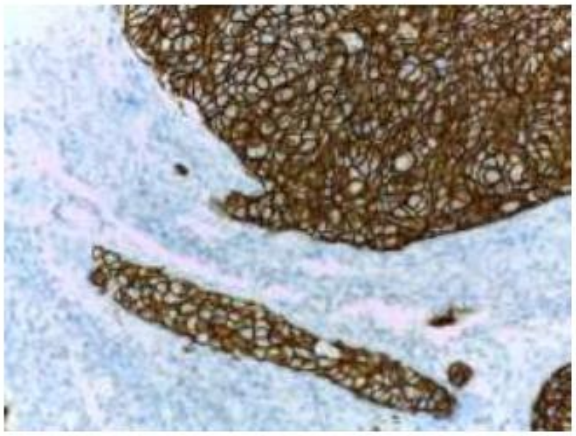


Figura 59. Marcação de HER-2, por IHC (HRP, 100x).[512]

Eventuais recorrências do tumor primário podem, ao longo dos anos, apresentar padrões distintos de expressão dos receptores hormonais. Assim, é recomendável que os testes sejam novamente realizados nas metástases, pois tumores positivos podem tornar-se negativos e vice-versa.

6.3.4 Consulta dos Processos Clínicos

Para consulta dos processos clínicos, foi efectuada uma pesquisa na base de dados dos doentes que realizaram estudos PET/CT no serviço de Medicina Nuclear do Centro Hospitalar Universitário de Coimbra, entre Novembro de 2004 (início do registo informático destes estudos) e Março de 2010, com base na existência dos parâmetros "cancro da mama" ou "mama" na indicação clínica ou no relatório do estudo.

Da consulta dos processos clínicos resultou a recolha dos seguintes parâmetros orientadores: tipo histológico do tumor (avaliação do tecido biopsado e confirmado pela análise histológica da peça cirúrgica), grau de diferenciação tumoral, números de nódulos nos tecidos mamários, estado dos receptores hormonais e do HER2, classificação TNM e quadrante mamário de localização da(s) lesão(ões).

Tal como anteriormente referido, a determinação do estado dos receptores hormonais foi feita através de exames imunoistoquímicos. Estes exames utilizam anticorpos sintetizados em laboratórios e direccionados às proteínas de interesse, no caso, os ER, PR e HER2.

Após consulta dos processos clínicos e de modo a que pudessem ser excluídos os doentes cujos processos se encontrassem incompletos (caso de doentes externos à unidade hospitalar CHUC, onde foi realizado o estudo e que, consequentemente, não dispunham de processo clínico disponível), foram calculados os valores de SUV_{max} e $SUV_{médio}$, nas imagens recuperadas de PET/CT realizado previamente. No caso de tumores multifocais, foram sempre considerados os focos de maior intensidade de captação de ^{18}F-FDG.

6.4 Análise Estatística

O tratamento estatístico foi efectuado recorrendo ao *software* estatístico SPSS (do inglês *Statistical Package for Social Sciences*) versão 20.

Na comparação da captação dos radiofármacos entre células em *high glucose* e *low glucose*, foi efectuada uma análise da variância de três factores com medidas repetidas num factor e, quando adequado, foram efectuadas comparações múltiplas pelo método de *Tukey*.

Nos estudos *in vitro*, para comparação dos diferentes fluorocromos estudados por citometria de fluxo, foram utilizados os testes de *Mann-Whitney* e/ou *Kruskal-Wallis* para ambas as condições de *high glucose* e *low glucose*.

Nos estudos funcionais *in vivo*, para comparação dos índices de captação dos diferentes tumores, obtidos por cálculo dos SUVs, foi utilizado o teste de *Kruskal-Wallis*.

Foi considerado, para todos os testes, um nível de significância de 5%.

7. Resultados

7.1 Estudos Pré Clínicos - Estudos *in vitro*

7.1.1 Captações

O resultado da avaliação das diferenças de captação de ^{18}F-FDG existentes entre as três linhas celulares estudadas, deriva da repetição de várias análises efectuadas ao longo do tempo, para cada uma das linhas consideradas e nas condições de concentração de glicose no meio de cultura pré-determinadas. A recolha de amostras foi repetida, em condições de HG e de LG, por momento e por linha celular, dados apresentados de forma resumida nas tabelas 9-11 e de forma detalhada em Anexo 1.

Tabela 9. Resumo dos valores de média e desvio padrão obtidos para a percentagem de captação de ^{18}F-FDG, da linha celular HCC1806, nas condições HG e LG, ao longo do tempo (0-240 min.):

	HCC1806 HG		**HC1806 LG**	
Tempos (min)	Média (% captação)	Desvio Padrão	Média (% captação)	Desvio Padrão
0	0,97	0,14	0,62	0,13
5	1,07	0,21	0,82	0,28
15	1,47	0,12	1,03	0,35
30	1,14	0,16	0,70	0,26
45	1,57	0,27	0,66	0,13
60	1,33	0,25	0,91	0,31
90	1,42	0,39	0,85	0,13
120	1,42	0,30	1,15	0,46
150	1,66	0,46	1,02	0,34
180	0,97	0,30	1,02	0,22
210	1,48	0,49	0,99	0,21
240	1,30	0,53	0,83	0,14

Tabela 10. Resumo dos valores de média e desvio padrão obtidos para a percentagem de captação de ^{18}F-FDG, da linha celular MCF-7, nas condições HG e LG, ao longo do tempo (0-240 min.):

	MCF-7 HG		MCF-7 LG	
Tempos (min)	Média (% captação)	Desvio Padrão	Média (% captação)	Desvio Padrão
0	0,78	0,26	1,57	0,12
5	0,49	0,14	1,67	0,09
15	0,64	0,11	2,03	0,03
30	0,80	0,18	2,91	0,63
45	0,95	0,19	3,77	0,15
60	0,95	0,12	4,70	0,20
90	1,24	0,11	6,05	0,28
120	1,65	0,22	7,99	0,20
150	1,67	0,09	8,87	0,21
180	1,30	0,23	10,70	1,74
210	1,93	0,16	13,20	1,74
240	1,69	0,55	20,48	4,72

Tabela 11. Resumo dos valores de média e desvio padrão obtidos para a percentagem de captação de ^{18}F-FDG, da linha celular HCC1954, nas condições HG e LG, ao longo do tempo (0-240 min.):

	HCC1954 HG		HCC1954 LG	
Tempos (min)	Média (% captação)	Desvio Padrão	Média (% captação)	Desvio Padrão
0	1,01	0,19	0,97	0,08
5	1,21	0,03	1,87	0,35
15	1,32	0,19	2,45	0,28
30	1,66	0,06	3,92	0,49
45	1,90	0,04	4,81	0,97
60	2,20	0,26	6,39	1,04
90	3,17	0,16	9,77	0,70
120	3,36	0,21	11,00	1,16
150	2,76	0,34	12,26	2,63
180	2,93	0,53	13,37	3,15
210	3,38	0,48	13,98	1,29
240	3,11	0,32	15,36	2,16

Os resultados descritivos incluem o tamanho da amostra e percentagens de casos, valores máximos e mínimos, médias, desvios padrão, intervalos de confiança, variâncias e testes de normalidade *Shapiro-Wilk* e *Kolmogorov-Smirnov*, determinados para cada momento da amostragem e para todas as linhas celulares.

Da análise dos resultados obtidos, é possível verificar um aumento progressivo, ao longo do tempo, da percentagem de captação de ^{18}F-FDG na linha celulare MCF-7, como mostra a figura 60, e na linha celular HCC1954, na figura 61, em ambiente de LG e de HG.

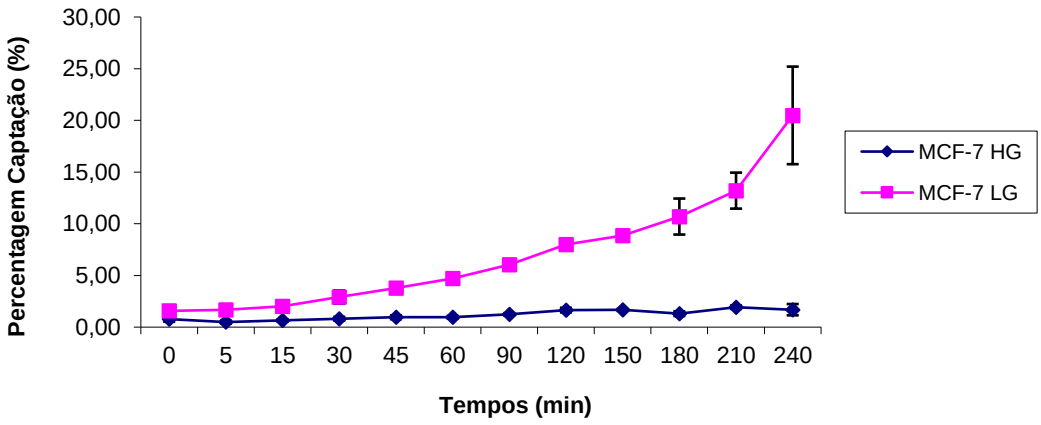


Figura 60. Distribuição temporal da percentagem de captação de ^{18}F-FDG e respectivas barras de erro, pela linha celular MCF-7, em ambientes de LG e de HG.

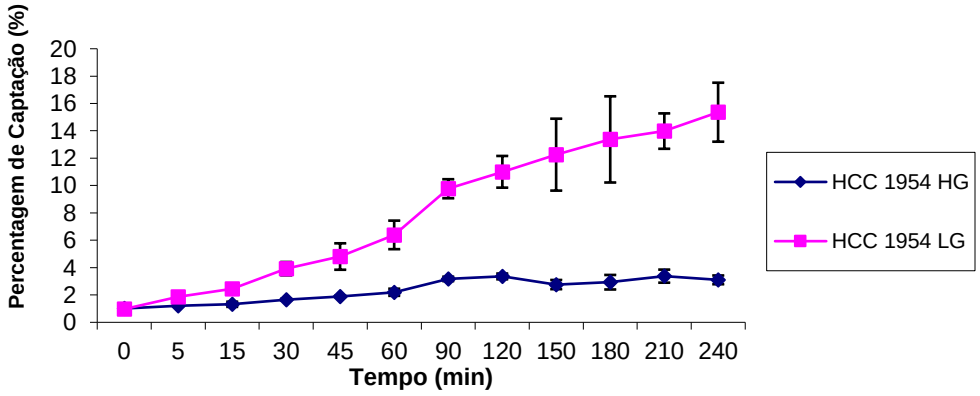


Figura 61. Distribuição temporal da percentagem de captação de ^{18}F-FDG e respectivas barras de erro, pela linha celular HCC1954, em ambientes de LG e HG.

A percentagem de captação de ^{18}F-FDG no caso da linha celular HCC1806, mostrou-se relativamente estável e reduzida ao longo do tempo, como demonstrado pela figura 62, tanto em ambiente de LG como de HG.

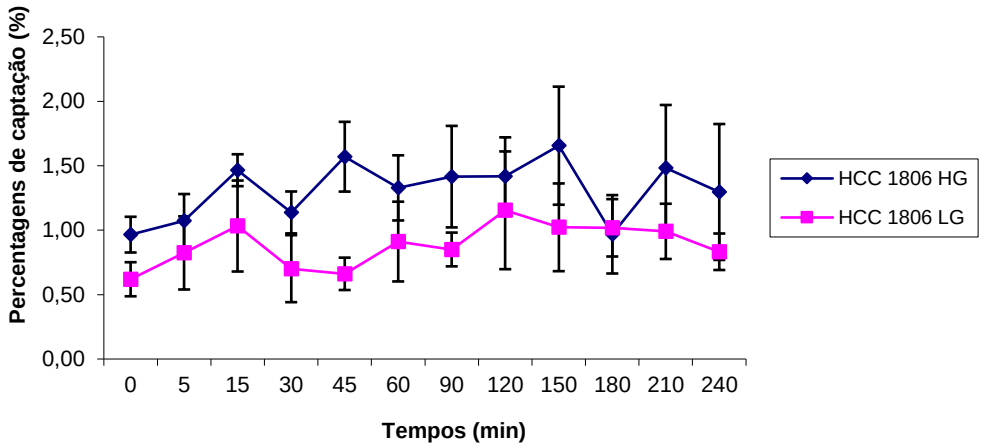


Figura 62. Distribuição temporal da percentagem de captação de ^{18}F-FDG e respectivas barras de erro, pela linha celular HCC1954, em ambientes de LG e HG.

Para comparação das linhas celulares, considerando a mesma condição de concentração de glicose no meio de cultura e os mesmos tempos de recolha de amostra, foi utilizado o teste de análise não paramétrica de *Kruskall-Wallis*. Os resultados obtidos encontram-se ilustrados na tabela 12.

Tabela 12. Resumo dos valores de *p* obtidos pela aplicação do teste de *Kruskal-Wallis*, para comparação dos resultados de captação de ^{18}F-FDG entre as diferentes linhas celulares, por tempo e por condição de HG e LG:

Tempo (min)	HG	LG
0	0,004	<0,001
5	0,095	<0,001
15	<0,001	<0,001
30	0,512	<0,001
45	0,065	<0,001
60	0,005	<0,001
90	0,003	<0,001
120	0,001	<0,001
150	0,322	<0,001
180	0,047	<0,001
210	0,010	<0,001
240	0,001	<0,001

Existência de diferenças estatisticamente significativas.

Para realização do estudo comparativo, foram efectuadas comparações entre as condições de HG e de LG, para cada tempo e para cada linha celular, utilizando os valores de *p* determinados pela aplicação do teste não paramétrico de *Mann-Whitney*. Os valores obtidos encontram-se listados na tabela 13.

Tabela 13. Resumo dos valores de *p* obtidos pela aplicação do teste de *Mann-Whitney* para comparação dos resultados obtidos de captação de ^{18}F-FDG, para cada linha celular, nas condições HG e LG:

Tempo (min)	MCF-7	HCC1806	HCC1954	HFF1
0	0,013	<0,001	0,001	a)
5	<0,001	0,174	0,057	0,001
15	<0,001	<0,001	0,001	a)
30	<0,001	0,045	0,012	<0,001
45	<0,001	0,006	0,003	a)
60	<0,001	0,349	0,003	0,006
90	<0,001	0,084	0,001	0,002
120	<0,001	0,437	<0,001	0,001
150	<0,001	0,925	<0,001	0,029
180	<0,001	0,293	<0,001	a)
210	<0,001	0,687	0,015	0,011
240	<0,001	0,993	0,014	0,064

a) Sem medições para a condição HG;
Existência de diferenças estatisticamente significativas.

Da análise comparativa dos resultados obtidos, é possível verificar um aumento progressivo, ao longo do tempo, da percentagem de captação de ^{18}F-FDG das linhas celulares MCF-7 e HCC1954, relativamente à linha HCC1806, em ambiente de LG, de acordo com a figura 63.

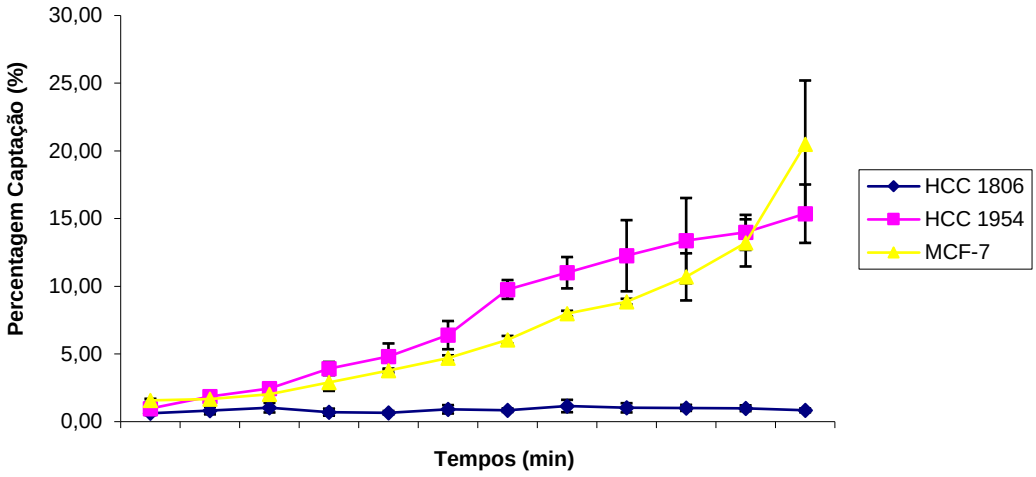


Figura 63. Distribuição temporal da percentagem de captação de ^{18}F-FDG e respectivas barras de erro, pelas linhas celulares MCF-7, HCC1954 e HCC1806, em ambiente de LG.

Em ambiente de HG, a percentagem de captação de ^{18}F-FDG da linha celular HCC1954, é progressivamente mais elevada, relativamente à das linhas celulares MCF-7 e HCC1806, de acordo com a figura 64.

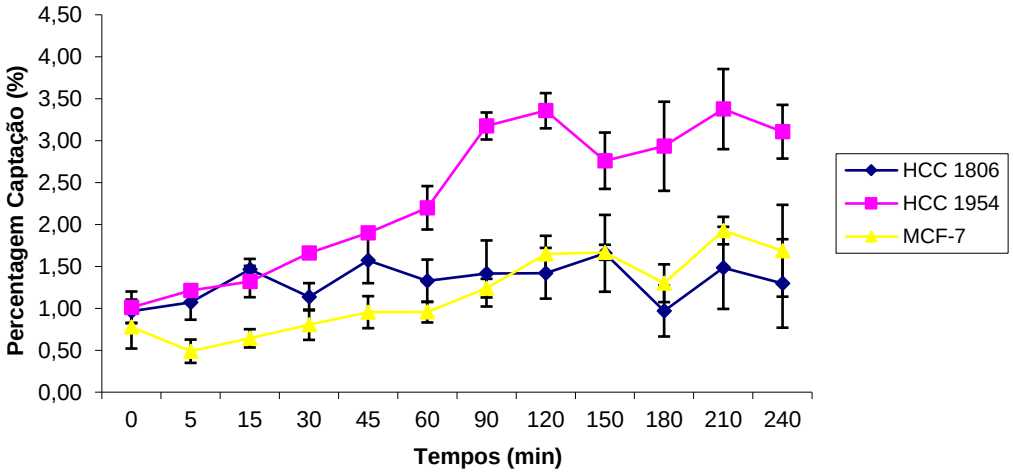


Figura 64. Distribuição temporal da percentagem de captação de ^{18}F-FDG e respectivas barras de erro, pelas linhas celulares MCF-7, HCC1954 e HCC1806, em ambiente de HG.

De modo a determinar entre que grupos existiam diferenças estatisticamente significativas relativamente a cada momento de recolha da amostra, foram efectuadas comparações múltiplas utilizando o teste de *Mann-Whitney*, com correcção de *Bonferroni* para as condições que apresentavam, à partida, diferenças significativas. Os resultados obtidos encontram-se descritos na tabela 14.

Tabela 14. Resultados de análises emparelhadas dos valores de captação de ^{18}F-FDG entre linhas celulares, por momento de recolha da amostra e por condição de HG e LG:

Tempo	Comparação	HG (*p*-valor)	LG (*p*-valor)
0	MCF-7 vs HCC1806	0,309	<0,001
	MCF-7 vs HCC1954	0,538	1,000
	MCF-7 vs HFF1	a)	1,000
	HCC1806 vs HCC1954	0,010	0,023
	HCC1806 vs HFF1	a)	0,784
	HCC1954 vs HFF1	a)	1,000
5	MCF-7 vs HCC1806	b)	<0,001
	MCF-7 vs HCC1954	b)	1,000
	MCF-7 vs HFF1	b)	1,000
	HCC1806 vs HCC1954	b)	<0,001
	HCC1806 vs HFF1	b)	0,030
	HCC1954 vs HFF1	b)	1,000
15	MCF-7 vs HCC1806	<0,001	<0,001
	MCF-7 vs HCC1954	1,000	1,000
	MCF-7 vs HFF1	a)	1,000
	HCC1806 vs HCC1954	0,271	<0,001
	HCC1806 vs HFF1	a)	0,006
	HCC1954 vs HFF1	a)	1,000
30	MCF-7 vs HCC1806	b)	<0,001
	MCF-7 vs HCC1954	b)	1,000
	MCF-7 vs HFF1	b)	1,000
	HCC1806 vs HCC1954	b)	<0,001
	HCC1806 vs HFF1	b)	0,005
	HCC1954 vs HFF1	b)	1,000
45	MCF-7 vs HCC1806	b)	<0,001
	MCF-7 vs HCC1954	b)	1,000
	MCF-7 vs HFF1	b)	1,000
	HCC1806 vs HCC1954	b)	<0,001
	HCC1806 vs HFF1	b)	0,007
	HCC1954 vs HFF1	b)	1,000
60	MCF-7 vs HCC1806	1,000	<0,001
	MCF-7 vs HCC1954	0,009	1,000
	MCF-7 vs HFF1	1,000	1,000
	HCC1806 vs HCC1954	0,006	<0,001
	HCC1806 vs HFF1	1,000	0,036
	HCC1954 vs HFF1	1,000	1,000
90	MCF-7 vs HCC1806	1,000	<0,001
	MCF-7 vs HCC1954	0,024	0,372

	MCF-7 vs HFF1	1,000	1,000
	HCC1806 vs HCC1954	0,011	<0,001
	HCC1806 vs HFF1	1,000	0,154
	HCC1954 vs HFF1	0,019	0,348
120	MCF-7 vs HCC1806	1,000	<0,001
	MCF-7 vs HCC1954	0,025	1,000
	MCF-7 vs HFF1	0,489	0,671
	HCC1806 vs HCC1954	0,001	<0,001
	HCC1806 vs HFF1	1,000	0,207
	HCC1954 vs HFF1	0,006	0,801
150	MCF-7 vs HCC1806	b)	<0,001
	MCF-7 vs HCC1954	b)	1,000
	MCF-7 vs HFF1	b)	0,944
	HCC1806 vs HCC1954	b)	<0,001
	HCC1806 vs HFF1	b)	0,616
	HCC1954 vs HFF1	b)	1,000
180	MCF-7 vs HCC1806	0,201	<0,001
	MCF-7 vs HCC1954	1,000	1,000
	MCF-7 vs HFF1	a)	0,715
	HCC1806 vs HCC1954	0,244	<0,001
	HCC1806 vs HFF1	a)	0,260
	HCC1954 vs HFF1	a)	0,798
210	MCF-7 vs HCC1806	0,047	<0,001
	MCF-7 vs HCC1954	1,000	1,000
	MCF-7 vs HFF1	0,482	0,868
	HCC1806 vs HCC1954	0,099	<0,001
	HCC1806 vs HFF1	1,000	0,101
	HCC1954 vs HFF1	0,318	1,000
240	MCF-7 vs HCC1806	0,194	<0,001
	MCF-7 vs HCC1954	0,225	1,000
	MCF-7 vs HFF1	0,791	1,000
	HCC1806 vs HCC1954	0,001	<0,001
	HCC1806 vs HFF1	1,000	1,000
	HCC1954 vs HFF1	0,056	1,000

a) Sem valores de captação para a linha celular HFF-1;

b) Sem diferenças estatisticamente significativas pelo teste de *Kruskal-Wallis*;

Existência de diferenças estatisticamente significativas.

7.1.2 Citometria

A análise descritiva dos dados relativos à expressão de transportadores de glicose inclui análises de média, mediana, variância, desvio padrão, valores máximos e mínimos e amplitude do intervalo da amostra. Todos os resultados são apresentados em intensidade média de fluorescência e encontram-se ilustrados nas tabelas incluídas em Anexo 2.

Da comparação da expressão membranar (M) e citoplasmática (C) dos diferentes transportadores estudados (GLUT-1 (M), GLUT-1 (C), GLUT-3 (M), GLUT-3 (C), GLUT-5 (M),

GLUT-5 (C), GLUT-12 (M) e GLUT-12 (C)) resultaram diferenças na distribuição da sua expressão na mesma linha celular quando estudada em HG e LG, dados observáveis na tabela 15.

Tabela 15. Diferenças obtidas na expressão de transportadores de membrana na mesma linha celular quando estudada em HG e LG:

GLUT	Linha Celular	Condição	Teste Utilizado	*p*-valor
GLUT 1 (M)	MCF-7	LG vs HG	Teste t de Student	0,124
	HCC1806	LG vs HG	Mann-Whitney	0,025
	HCC1954	LG vs HG	Teste t de Student	0,017
GLUT 1 (C)	MCF-7	LG vs HG	Mann-Whitney	0,078
	HCC1806	LG vs HG	Mann-Whitney	0,023
	HCC1954	LG vs HG	Mann-Whitney	0,347
GLUT 3 (M)	MCF-7	LG vs HG	Teste t de Student	0,765
	HCC1806	LG vs HG	Mann-Whitney	0,163
	HCC1954	LG vs HG	Mann-Whitney	0,624
GLUT 3 (C)	MCF-7	LG vs HG	Teste t de Student	0,092
	HCC1806	LG vs HG	Mann-Whitney	0,032
	HCC1954	LG vs HG	Mann-Whitney	0,033
GLUT 5 (M)	MCF-7	LG vs HG	Mann-Whitney	0,505
	HCC1806	LG vs HG	Mann-Whitney	0,554
	HCC1954	LG vs HG	Mann-Whitney	1,000
GLUT 5 (C)	MCF-7	LG vs HG	Mann-Whitney	0,584
	HCC1806	LG vs HG	Mann-Whitney	0,245
	HCC1954	LG vs HG	Mann-Whitney	0,034
GLUT 12 (M)	MCF-7	LG vs HG	Mann-Whitney	0,034
	HCC1806	LG vs HG	Mann-Whitney	1,000
GLUT 12 (C)	MCF-7	LG vs HG	Mann-Whitney	1,000
	HCC1806	LG vs HG	Mann-Whitney	0,439

Existência de diferenças estatisticamente significativas.

De acordo com a tabela 15, a linha celular HCC1806 parece estar associada a uma maior variabilidade da expressão de GLUTs. Nas figuras 65 e 66 encontram-se ilustradas a variação na expressão de GLUT-1 (M) e GLUT-1 (C), de acordo com a concentração de glicose no meio.

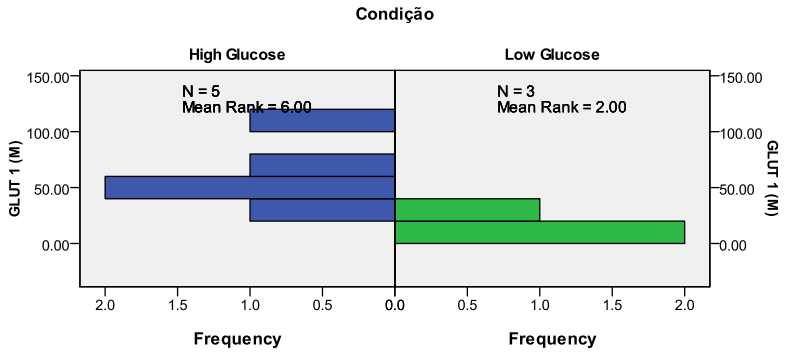


Figura 65. Diferenças obtidas na expressão de GLUT-1 (M) na linha celular HCC1806, estudada em HG e LG, pelo teste de Mann-Whitney.

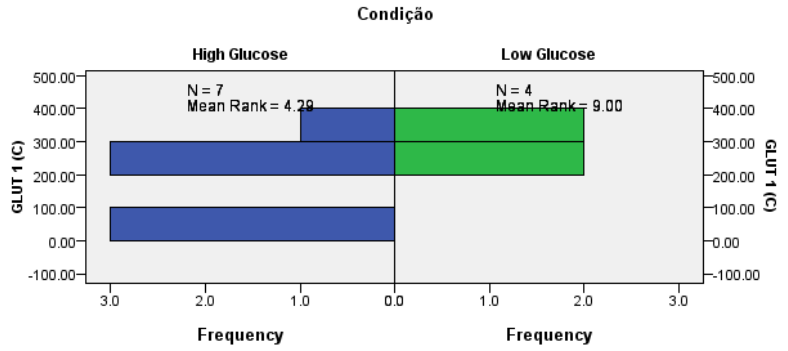


Figura 66. Diferenças obtidas na expressão de GLUT-1 (C) na linha celular HCC1806, estudada em HG e LG, pelo teste de Mann-Whitney.

Entre linhas celulares estudadas na mesma condição de concentração do meio, foram verificadas as diferenças apresentadas na tabela 16.

Tabela 16. Diferenças obtidas na expressão de transportadores de membrana entre linhas celulares quando estudadas em condições de HG e LG:

GLUT	Condição	Linha Celular	Teste Utilizado	*p*-valor	Análises Emparelhadas	*p*-valor
GLUT 1 (M)	HG	MCF-7	Kruskal-Wallis	0,033	MCF-7 vs HCC1806	0,039
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	0,270
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	1,000
GLUT 1 (C)		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,156	MCF-7 vs HCC1806	
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	
GLUT 3 (M)		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,900	MCF-7 vs HCC1806	
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	

		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	
GLUT 3 (C)		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,015	MCF-7 vs HCC1806	0,059
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	1,000
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	0,018
GLUT 5 (M)		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,177	MCF-7 vs HCC1806	
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	
GLUT 5 (C)		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,034	MCF-7 vs HCC1806	0,040
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	1,000
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	0,172
GLUT 12 (M)		MCF-7	Mann-Whitney	0,078		
		HCC1806				
GLUT 12 (C)		MCF-7	Mann-Whitney	0,180		
		HCC1806				
GLUT 1 (M)		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,005	MCF-7 vs HCC1806	0,479
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	0,127
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	0,005
GLUT 1 (C)		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,027	MCF-7 vs HCC1806	0,057
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	1,000
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	0,044
GLUT 3 (M)		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,013	MCF-7 vs HCC1806	0,040
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	1,000
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	0,027
GLUT 3 (C)		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,046	MCF-7 vs HCC1806	0,259
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	0,059
	LG	HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	1,000
GLUT 5 (M)		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,105	MCF-7 vs HCC1806	
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	
GLUT 5 (C)		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,288	MCF-7 vs HCC1806	
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	
GLUT 12 (M)		MCF-7	Mann-Whitney	0,013		
		HCC1806				
GLUT 12 (C)		MCF-7	Mann-Whitney	0,083		
		HCC1806				

Existência de diferenças estatisticamente significativas.

Em condições HG de concentração do meio, foram verificadas diferenças estatísticamente significativas na expressão de GLUT-1 (M). Essas diferenças de expressão são apresentadas na figura 67.

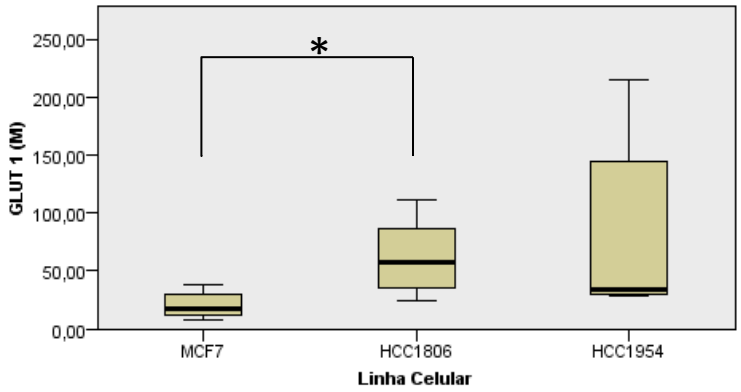


Figura 67. Variação da expressão de GLUT-1 (M) entre linhas celulares em condições de HG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$.

Também em condições HG de concentração, foram verificadas diferenças estatísticamente significativas na expressão de GLUT-5 (C), representadas na figura 68.

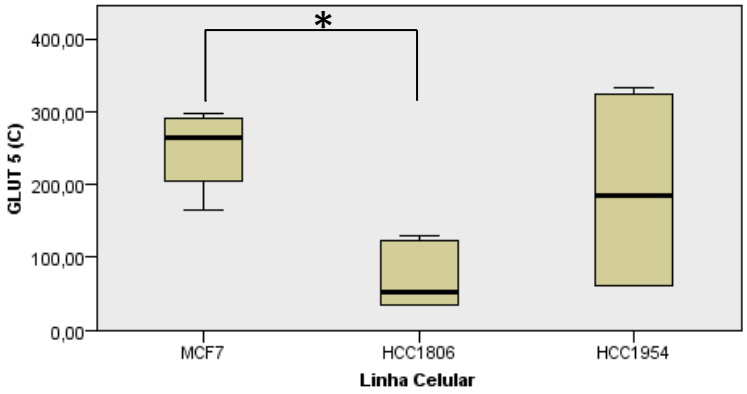


Figura 68. Variação da expressão de GLUT-5 (C) entre linhas celulares em condições de HG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$.

Em condições de LG e ainda de acordo com a tabela 16, verificam-se diferenças estatisticamente significativas na expressão de todas as proteínas transportadoras de glicose nas diferentes linhas celulares, à excepção da GLUT-5 (M) e GLUT-5 (C) e da GLUT-12 (C). As figuras 69-74 são ilustrativos dessas diferenças.

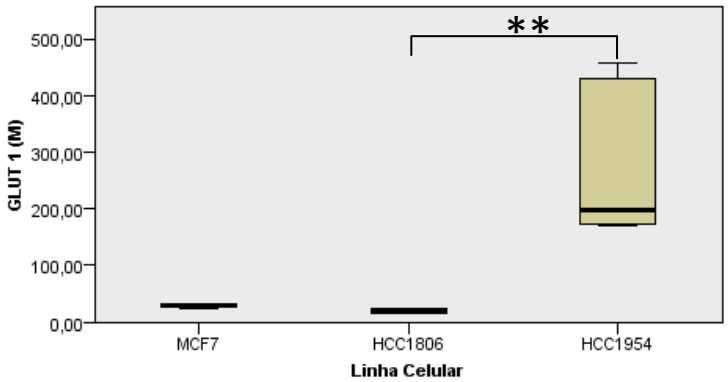


Figura 69. Variação da expressão de GLUT-1 (M), entre linhas celulares em, condições de LG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.

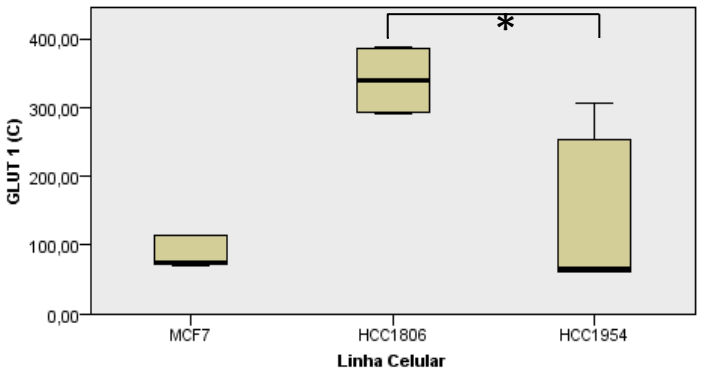


Figura 70. Variação da expressão de GLUT-1 (C), entre linhas celulares, em condições de LG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.

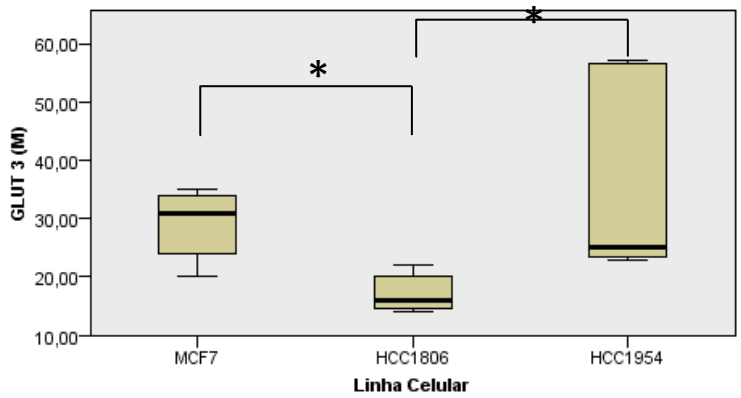


Figura 71. Variação da expressão de GLUT-3 (M), entre linhas celulares em, condições de LG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.

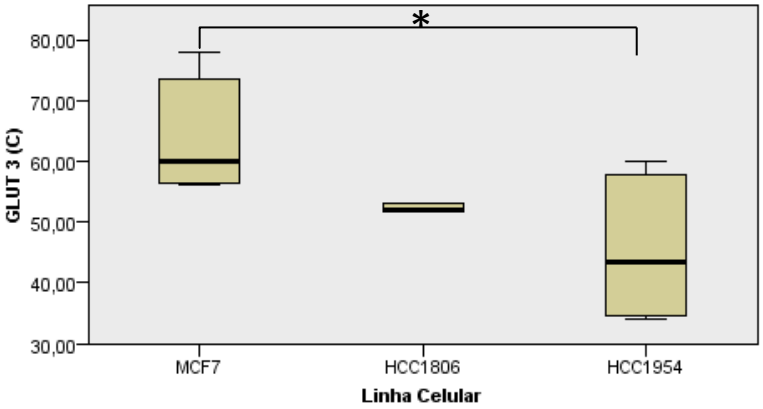


Figura 72. Variação da expressão de GLUT-3 (C), entre linhas celulares, em condições de LG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.

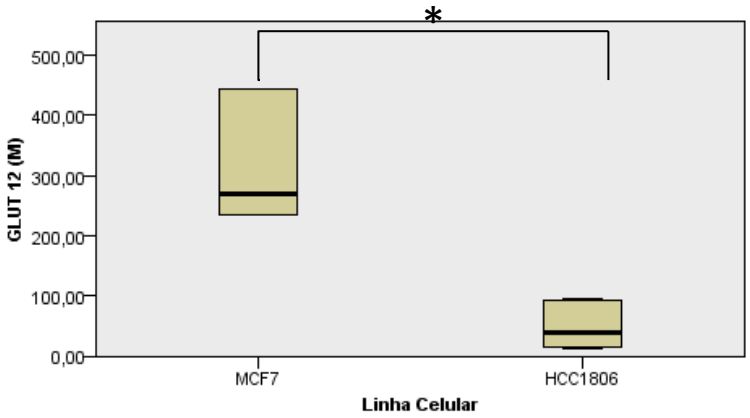


Figura 73. Variação da expressão de GLUT-12 (M), entre linhas celulares em, condições de LG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$.

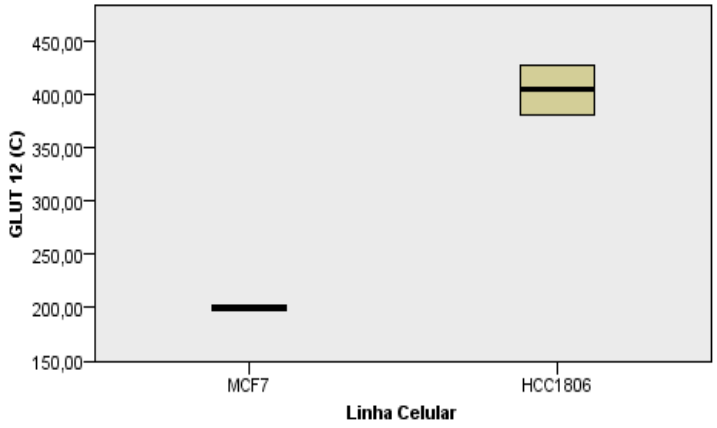


Figura 74. Variação da expressão de GLUT-12 (C), entre linhas celulares, em condições de LG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos dois ensaios. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$. Estes resultados não apresentam diferenças estatisticamente significativas.

Comparação da expressão de transportadores membranares de glicose nas diferentes linhas celulares e em condições de HG e LG, encontra-se representada nas figuras 75 e 76.

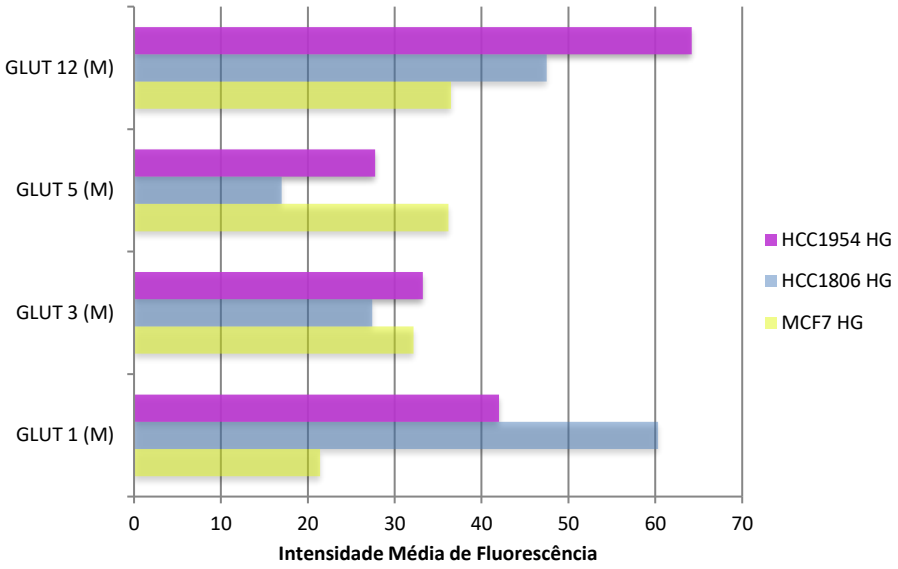


Figura 75. Comparação da expressão membranar de GLUT-1, GLUT-3, GLUT-5, GLUT-12 entre linhas celulares, em condições de HG.

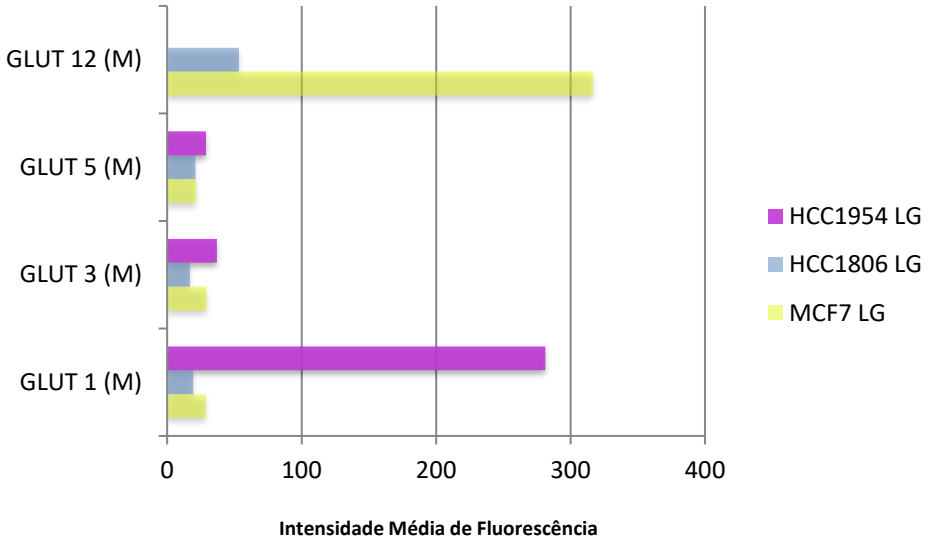


Figura 76. Comparação da expressão membranar de GLUT-1, GLUT-3, GLUT-5, GLUT-12 entre linhas celulares, em condições de LG.

Relativamente aos estudos de expressão de receptores hormonais e génicos, todos os resultados determinados para a análise descritiva efectuada, são apresentados em unidades de intensidade média de fluorescência, nas tabelas incluídas em Anexo 3. Esses resultados incluem

avaliações de média, mediana, variância, desvio padrão, valores máximos e mínimos e amplitude do intervalo da amostra.

Da comparação da expressão de receptores ER, PR e HER2, relativa às três linhas celulares estudadas em diferentes condições de concentração de glicose no meio de cultura, resultaram diferenças estatisticamente significativas na expressão de ER relativa à linha celular MCF-7, quando comparadas as condições de HG e LG, dados observáveis na tabela 17.

Tabela 17. Diferenças obtidas na expressão de ER, PR e HER2, para cada uma das linhas celulares utilizadas, quando avaliadas em condições de HG e LG:

Receptor	**Linha Celular**	**Condição**	**Teste Utilizado**	***p*-valor**
RE	MCF-7	LG vs HG	Teste t de Student	0,008
	HCC1806	LG vs HG	Teste t de Student	0,690
	HCC1954	LG vs HG	Mann-Whitney	0,519
RP	MCF-7	LG vs HG	Teste t de Student	0,831
	HCC1806	LG vs HG	Mann-Whitney	0,228
	HCC1954	LG vs HG	Mann-Whitney	0,886
HER-2	MCF-7	LG vs HG	Mann-Whitney	0,796
	HCC1806	LG vs HG	Mann-Whitney	0,883
	HCC1954	LG vs HG	Mann-Whitney	0,668

Existência de diferenças estatisticamente significativas.

A expressão de ER relativa à linha celular MCF-7 varia consoante a concentração do meio de cultura. Assim, verificam-se diferenças significativas na expressão de ER , nas MCF-7, em meio com elevada concentração de glicose, relativamente ao meio com reduzida concentração de glicose, de acordo com o expresso na tabela 17 e com o Teste t de *Student*. A variação da expressão de ER na linha celular MCF-7 encontra-se ilustrada na figura 77. O mesmo padrão não se verifica relativamente à expressão de PR e HER2 nesta linha celular, não sendo verificadas diferenças consideráveis consoante a concentração de glicose no meio de cultura.

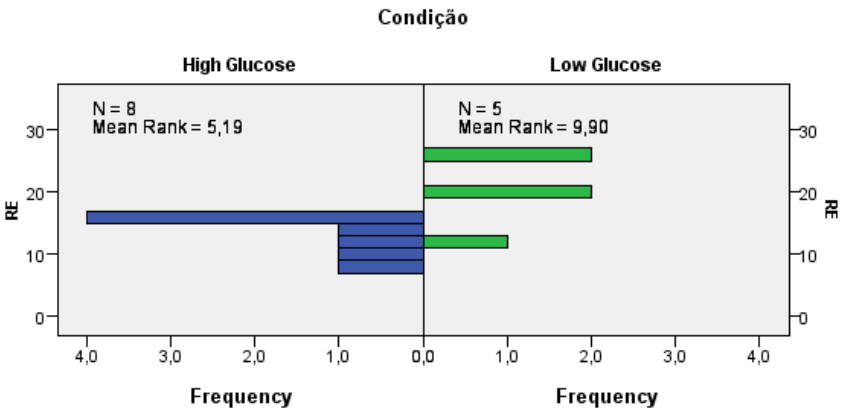


Figura 77. Variação da expressão de ER na linha celular MCF-7, consoante variação de condições de concentração de glicose no meio de cultura, de acordo com o teste t de *Student*.

Relativamente aos resultados da expressão de receptores, parecem não existir diferenças na distribuição de PR entre linhas celulares estudadas, quer em HG, quer em LG. Já a distribuição de receptores ER e HER2 apresenta diferenças consideráveis entre linhas celulares propagadas em HG. Em condições de LG, parecem não existir diferenças significativas na distribuição de ER entre linhas celulares, tendo sido detectadas diferenças estatisticamente significativas relativamente à distribuição de receptores HER2, de acordo com os resultados representados na tabela 18.

Tabela 18. Diferenças obtidas na expressão de receptores hormonais e génicos, entre linhas celulares, quando estudadas em condições de HG e LG:

Receptor	**Condição**	**Linha Celular**	**Teste Utilizado**	***p*-valor**	**Comparações Múltiplas**	***p*-valor**
ER	HG	MCF-7	Kruskal-Wallis	0,002	MCF-7 vs HCC1806	0,001
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	0,226
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	0,440
PR		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,458	MCF-7 vs HCC1806	
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	
HER-2		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,002	MCF-7 vs HCC1806	1,000
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	0,009
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	0,006

ER	LG	MCF-7	Kruskal-Wallis	0,217	MCF-7 vs HCC1806	
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	
PR		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,612	MCF-7 vs HCC1806	
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	
HER-2		MCF-7	Kruskal-Wallis	0,005	MCF-7 vs HCC1806	1,000
		HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	0,080
		HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	0,008

Existência de diferenças estatisticamente significativas.

A expressão de ER parece variar entre linhas celulares, em condições de HG. A ordem dessa expressão encontra-se ilustrada na figura 78.

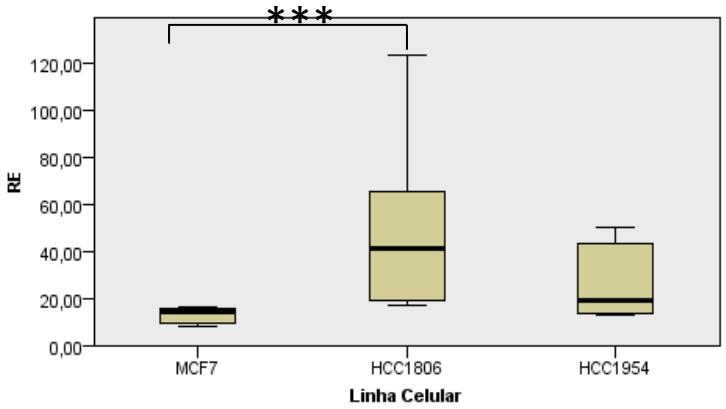


Figura 78. Variação da expressão de ER, entre linhas celulares em, condições de HG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 7 ensaios. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$.

A expressão de HER2 parece não variar consoante a concentração do meio de cultura. Contudo, a mesma expressão varia significativamente consoante a linha celular estudada, quer em condições de HG, quer em condições de LG, dados representados nas figuras 79 e 80. Ainda de acordo com a tabela 18, a expressão destes receptores na linha celular HCC1954, não apresenta diferenças significativas consoante o meio de cultura utilizado.

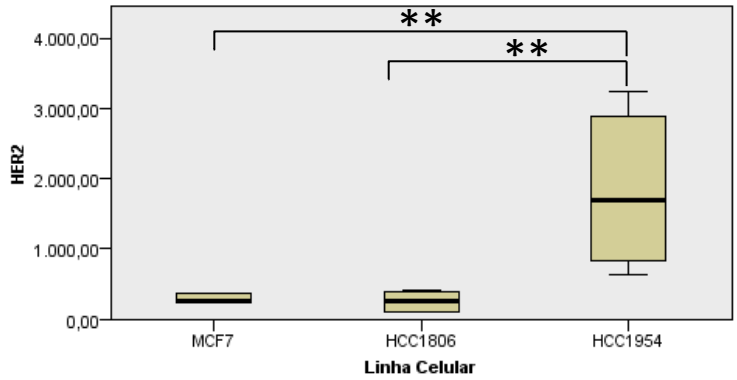


Figura 79. Variação da expressão de HER2, entre linhas celulares em, condições de HG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 6 ensaios. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.

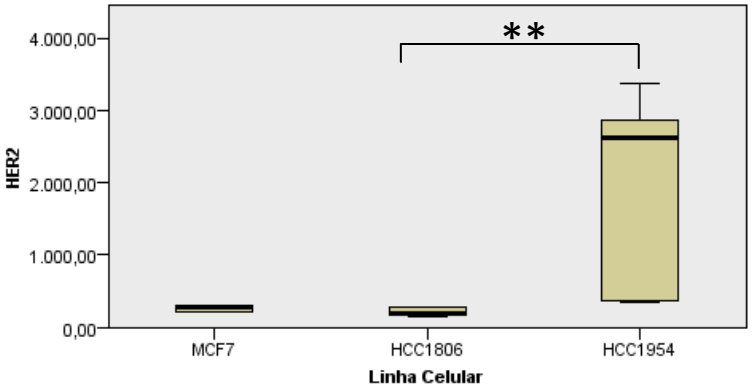


Figura 80. Variação da expressão de HER2, entre linhas celulares em, condições de LG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 3 ensaios. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.

Relativamente aos estudos de expressão de KI-67, todos os resultados determinados para a análise descritiva efectuada são apresentados em unidades de intensidade média de fluorescência, na tabela incluída em Anexo 4. Esses resultados incluem avaliações de média, mediana, variância, desvio padrão, valores máximos e mínimos e amplitude do intervalo da amostra.

Da comparação da expressão de KI-67, relativa a cada uma das três linhas celulares estudadas em condições distintas de concentração de glicose no meio de cultura, não resultaram

diferenças estatisticamente significativas entre concentrações, para nenhuma das linhas celulares, de acordo com a tabela 19.

Tabela 19. Diferenças obtidas na expressão de KI-67 para a mesma linha celular, estudada em condições de HG e LG:

Linha Celular	Condição	Teste Utilizado	*p*-valor
MCF-7	LG vs HG	Teste t de Student	0,250
HCC1806	LG vs HG	Mann-Whitney	0,056
HCC1954	LG vs HG	Teste t de Student	0,140

Relativamente aos resultados da expressão de KI-67, parecem existir diferenças significativas entre linhas celulares estudadas em HG, de acordo com os resultados representados na tabela 20. Comparativamente, em LG, não parecem existir diferenças significativas na expressão da proteína, em função da linha celular, de acordo com os dados da mesma tabela 20. No entanto, quando feitas comparações emparelhadas, são detectadas diferenças estatisticamente significativas entre a expressão de KI-67 da linha celular HCC1806, relativamente às duas restantes linhas celulares, MCF-7 e HCC1954. As diferenças de expressão de KI-67 entre as 3 linhas celulares estudadas encontram-se representadas na figura 81.

Tabela 20. Diferenças obtidas na expressão de KI-67, entre linhas celulares, em condições de HG e LG:

Condição	Linha Celular	Teste Utilizado	*p*-valor	Comparações Múltiplas	*p*-valor
HG	MCF-7	Kruskal-Wallis	0,005	MCF-7 vs HCC1806	0,0240
	HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	0,689
	HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	0,046
LG	MCF-7	Kruskal-Wallis	0,900	MCF-7 vs HCC1806	0,892
	HCC1806			MCF-7 vs HCC1954	0,328
	HCC1954			HCC1806 vs HCC1954	0,261

Existência de diferenças estatisticamente significativas.

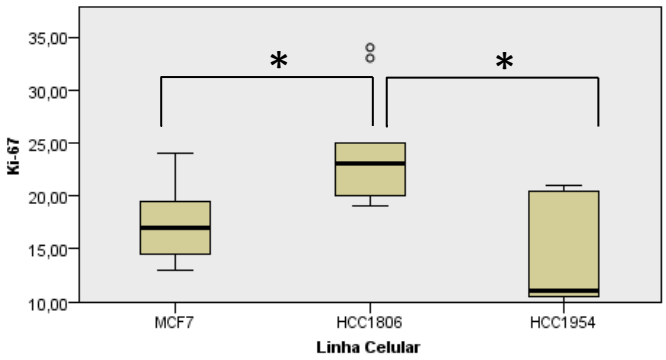


Figura 81. Variação da expressão de KI-67, entre linhas celulares, em condições de HG, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 5 ensaios. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$.

Analisando os valores de expressão de KI-67 entre as linhas celulares MCF-7 e HCC1806, em ambiente de HG, obtêm-se diferenças estatisticamente significativas, ainda de acordo com os dados da tabela 20 e esquematizadas na figura 82.

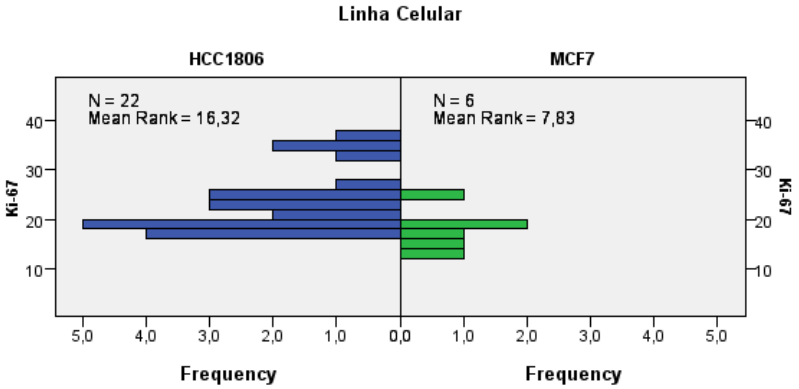


Figura 82. Variação da expressão de KI-67, entre as linhas celulares HCC1806 e MCF-7, em condições de HG, de acordo com o teste de Mann-Whitney.

Comparando os resultados da expressão de KI-67 entre as linhas celulares HCC1806 e HCC1954, em ambiente de HG, obtêm-se diferenças estatisticamente significativas, de acordo com os dados da tabela 20 e o representado na figura 83.

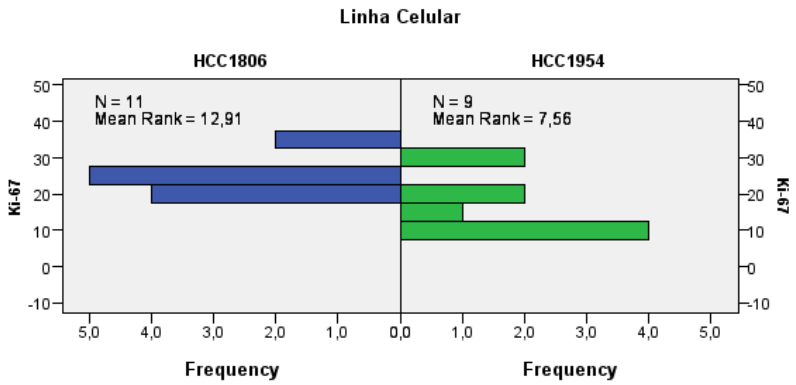


Figura 83. Variação da expressão de KI-67, entre as linhas celulares HCC1806 e HCC1954, condições de HG, de acordo com o teste de Mann-Whitney.

Estes dados sugerem, portanto, a expressão significativamente superior de KI-67 na linha celular HCC1806, em ambiente de elevada concentração de glicose. A expressão desta proteína parece, no entanto, ser independente do meio de cultura utilizado, de acordo com os dados representados na tabela 20.

7.2 Estudos Clínicos

Da pesquisa efectuada na base de dados hospitalar, resultaram 629 registos de estudos PET/CT, cujos resultados apresentavam os termos "mama" ou "cancro da mama". Destes, e após análise do relatório médico da PET/CT, apenas 113 foram seleccionados, mediante o estudo PET tivesse sido pedido no contexto de avaliação de patologia mamária e/ou o resultado da PET apresentasse registo de captação mamária de ^{18}F-FDG, sugestiva de tumor primitivo mamário ou recidiva local de neoplasia mamária conhecida. Em ambos os casos, com avaliação por PET/CT prévia a terapêutica sistémica. Foram ainda incluídos casos em que o estudo PET/CT tivesse sido pedido no contexto de avaliação de patologia mamária, mesmo que o mesmo estudo não apresentasse registo de captação mamária de ^{18}F-FDG. Dos 113 casos seleccionados, 34 tiveram de ser excluídos, uma vez que se tratavam de doentes externos à instituição, inviabilizando a consulta do seu processo clínico. Deste modo, foram seleccionados, por possibilidade de acesso ao processo clínico, 79 casos. Destes, 8 não apresentavam informação clínica relevante, ou seja, completa. No entanto, para efeitos de determinação da captação de ^{18}F-FDG, foram ainda incluídos neste estudo. Assim, em termos de acesso a toda a informação clínica relevante a este estudo, foram considerados 71 estudos PET/CT de 66 doentes do sexo feminino, realizados entre Outubro de 2006 e Março de 2010. Foram ainda considerados 8 casos em que a informação clínica

se encontrava incompleta. Os resultados obtidos relativos aos relatórios médicos dos estudos PET/CT, biópsias, análise histológica e classificação TNM final para cada doente, efectuados em contexto de avaliação de tumores primitivos ou recidiva local de cancro da mama, encontram-se em Anexo 5. Não foi possível incluir neste estudo, apenas casos em que as características histológicas das peças operatórias tivessem correspondência com as características de expressão hormonal e génica das linhas celulares utilizadas nos estudos *in vitro*, sob pena de não obtenção de número de casos suficiente.

Os casos clínicos seguintes são exemplos representativos dos estudos PET/CT incluídos no presente trabalho e respectivos resultados.

7.2.1 Casos Clínicos

Caso 1:

O caso clínico 1, representado nas figuras 84-87 é relativo a uma doente de 71 anos com carcinoma da mama, préviamente operada e submetida a quimioterapia. Na altura do exame de PET/CT, apresentava recidiva ganglionar cervical, com marcadores tumorais normais. O estudo foi pedido para restadiamento e o relatório médico concluiu "*Destaca-se intensa hiperacumulação anómala de ^{18}F-FDG, com distribuição heterogénea, numa lesão de contornos irregulares e limites imprecisos localizada na porção superior da parede anterior do hemitórax direito, imediatamente acima da região da mastectomia. Esta lesão envolve extensamente a totalidade da 1ª arco costal direito, com destruição do tecido ósseo, bem como a porção lateral e anterior do 2º arco costal homolateral, a porção medial da clavícula e a metade direita de todo o manúbrio esternal, estendendo-se para os músculos peitorais direitos e ainda, anteriormente, para o tecido celular subcutâneo adjacente. Este aspecto traduz lesão hipermetabólica, compatível com exuberante recidiva local. Observa-se intensa hiperacumulação anómala de ^{18}F-FDG em adenopatias latero-cervicais inferiores (...). No contexto clínico de carcinoma da mama, este estudo sugere exuberante recidiva local, com envolvimento ganglionar secundário latero-cervical direito, axilar esquerdo, mediastínico e bronco-hilar bilateral e, ainda, metastização pulmonar e óssea disseminadas e uma metástase hepática única*.". Neste caso, a biópsia revelou carcinoma ductal invasivo, resultado confirmado pela análise histológica, G2. Presença de nódulo mamário único, RE+++, RP+, HER2+++; T2N1Mx (metastização disseminada na altura desta PET).

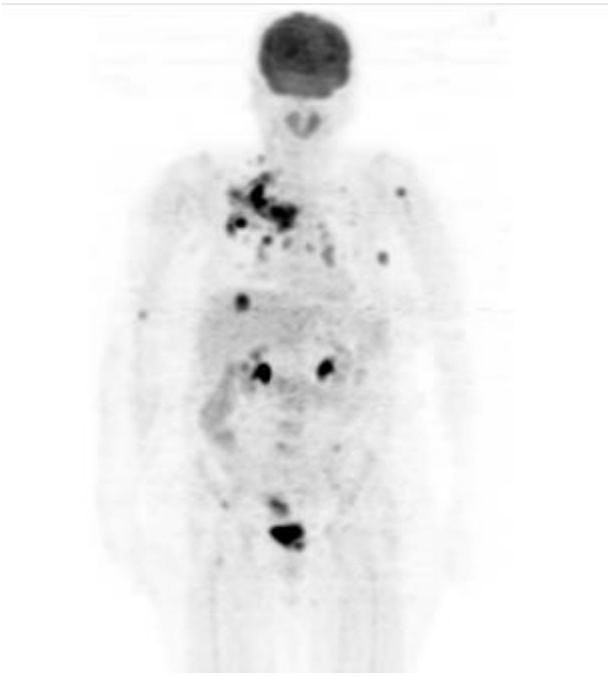


Figura 84. Estudo PET de corpo inteiro com ^{18}F-FDG. Exame para restadiamento de recidiva de carcinoma da mama préviamente tratado com cirurgia e quimioterapia. Imagens adquiridas 60 min. após administração endovenosa de 9,5 mCi de radiofármaco.

Figura 85. Corte axial de estudo tomográfico de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para restadiamento de recidiva de carcinoma da mama.

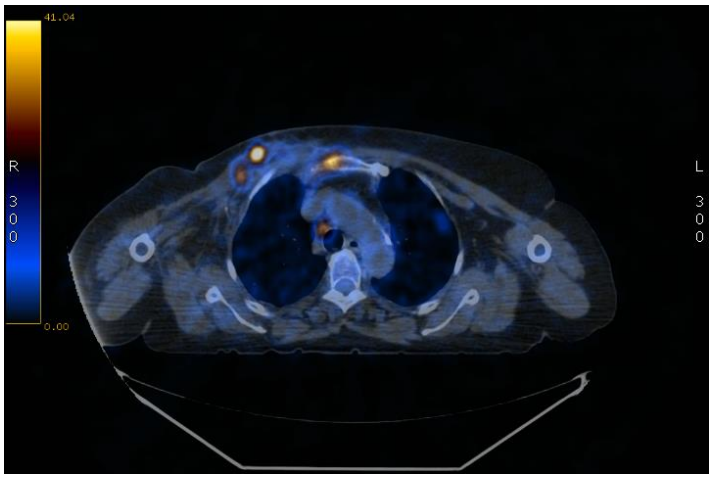


Figura 86. Corte axial da imagem de fusão de estudos tomográficos, por PET e por CT, efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para restadiamento de recidiva de carcinoma da mama.

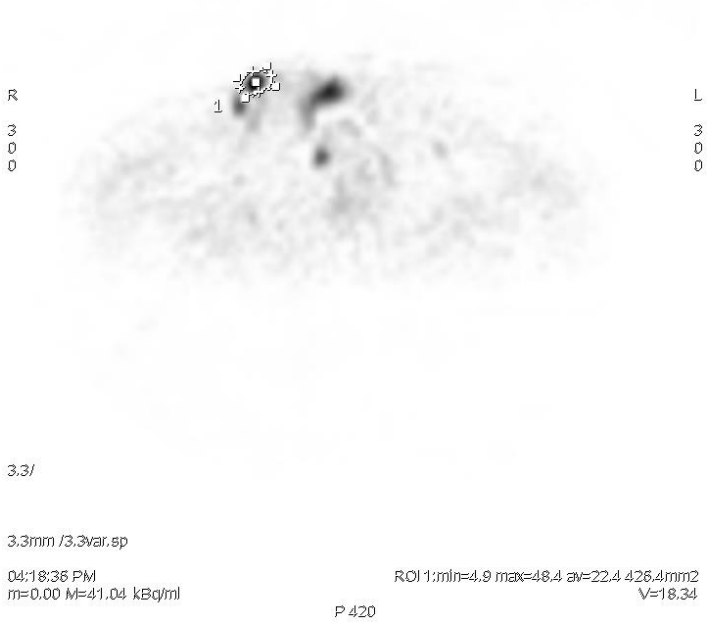


Figura 87. Corte transversal da imagem de estudo tomográfico por tomografia de emissão de positrões, efectuado no contexto de estudo de PET/CT para restadiamento de recidiva de carcinoma da mama e cálculo do SUV ($SUV_{máx}$ = 48,4; $SUV_{máx}$ = 16).

Caso 2:

O caso clínico 2, representado pelas figuras 88-91 é relativo a uma doente de 58 anos com nódulo suspeito de carcinoma localmente avançado da mama direita, com cerca de 12 cm e aderente aos planos profundos. Apresentava elevação do CA 15.3 e o estudo PET/CT foi pedido

para estadiamento inicial. O relatório médico concluiu "*Destaca-se intensa hiperacumulação anómala de ^{18}F-FDG numa volumosa massa de conformação nodular, localizada no quadrante infero-interno da mama direita, praticamente adjacente à parede torácica, parecendo envolver a porção inferior do músculo grande peitoral homolateral e, mais inferiormente, os intercostais, medindo aproximadamente 9 x 10 cm. Este aspecto traduz lesão hipermetabólica sugerindo, no contexto clínico, massa neoplásica maligna em actividade. Observa-se ainda hiperacumulação anómala de ^{18}F-FDG* (...). *Este estudo sugere volumosa massa neoplásica maligna na mama direita e envolvimento ganglionar secundário axilar homolateral.*". Neste caso, a biópsia revelou presença de tecido de carcinoma ductal invasivo, confirmado por análise histológica, G3, RE-, RP-, HER2-. Estadiamento inicial, T2N0.

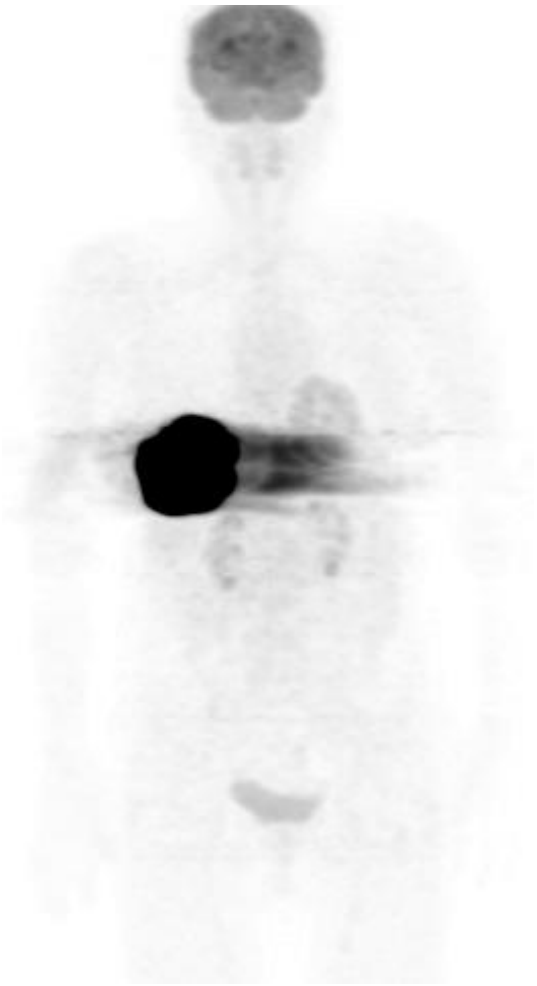


Figura 88. Estudo PET de corpo inteiro com ^{18}F-FDG. Exame para estadiamento inicial de carcinoma localmente avançado da mama direita. Imagens adquiridas 60 min. após administração endovenosa de 9,4 mCi de radiofármaco.

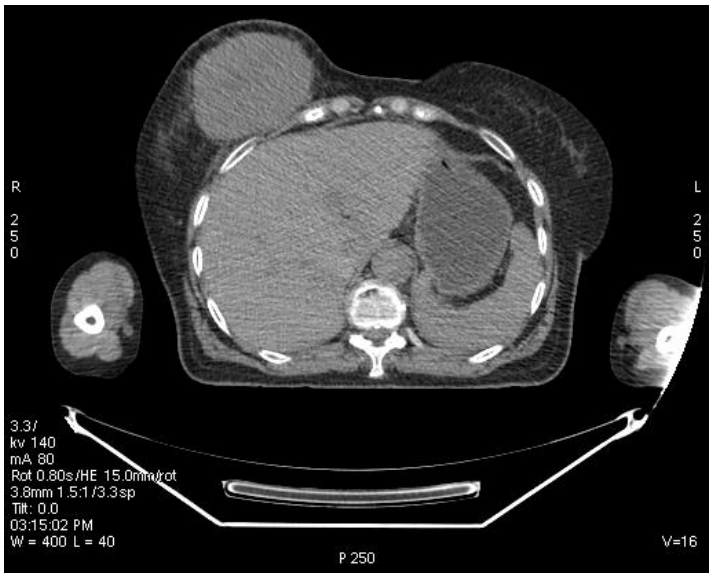


Figura 89. Corte transversal de estudo tomográfico de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para estadiamento inicial de carcinoma localmente avançado da mama direita.

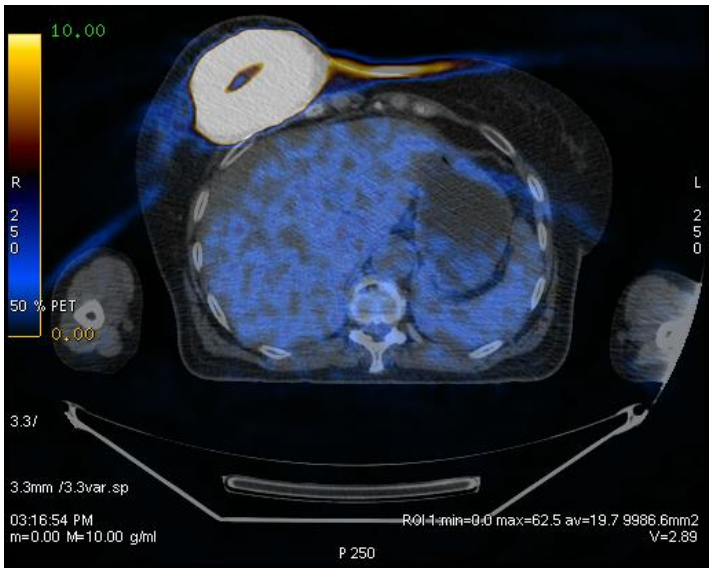


Figura 90. Corte transversal da imagem de fusão de estudos tomográficos, por PET e por CT, efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para estadiamento inicial de carcinoma localmente avançado da mama direita.

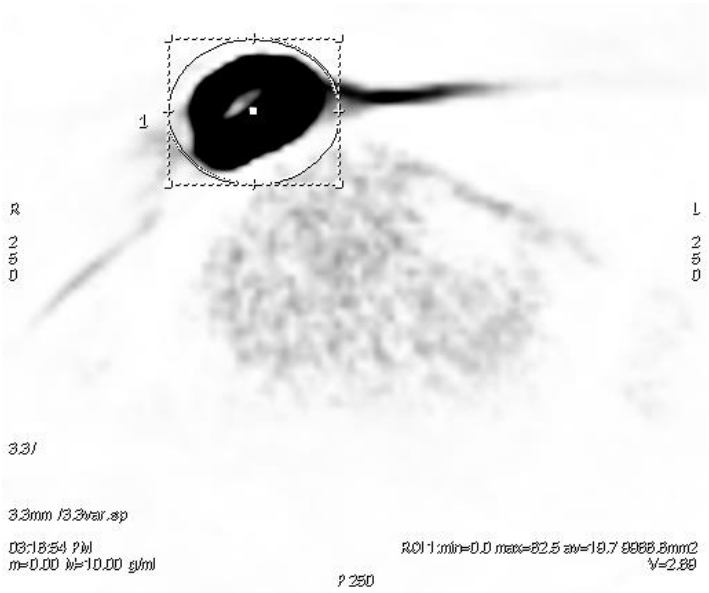


Figura 91. Corte transversal da imagem de estudo tomográfico por PET efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para estadiamento inicial de carcinoma localmente avançado da mama direita. Cálculo do SUV ($SUV_{máx}$ = 62,5; $SUV_{méd}$ = 32) em corte transversal da imagem de estudo PET.

Estudo de *follow-up* foi realizado dois meses depois, altura pela qual, o carcinoma da mama direita não tinha ainda sido operado, mas se encontrava sob quimioterapia neoadjuvante. O estudo pedido para avaliação da resposta ao tratamento, 3 semanas após o 3º ciclo de quimioterapia sugeriu: "*manter-se doença neoplásica maligna em actividade na mama direita, embora com redução muito significativa das dimensões e da actividade metabólica comparativamente com o exame de estadiamento realizado a 02/02/2009.*"

Caso 3:

O caso clínico representado nas figuras 92-97 diz respeito uma doente de 53 anos com neoplasia da mama direita. Estudo PET/CT foi pedido para estadiamento inicial. O relatório médico concluiu, neste caso, que da análise das imagens foi possível observar, "*na mama direita, uma área de captação aumentada de ^{18}F-FDG correspondendo, nas imagens anatómicas, a uma zona de densificação dos tecidos moles, aspecto anatomo-funcional que deverá estar relacionado com a lesão neoplásica conhecida. No restante estudo existe um padrão de biodistribuição do radiofármaco dentro da normalidade, sem individualização de alterações hipermetabólicas suspeitas de lesões secundárias. Estudo compatível com neoplasia da mama direita, sem lesões secundárias.*"

Figura 92. Estudo PET de corpo inteiro com ^{18}F-FDG. Exame para estadiamento inicial de alteração neoplásica da mama direita. Imagens adquiridas 60 min. após administração endovenosa de 6 mCi de radiofármaco.

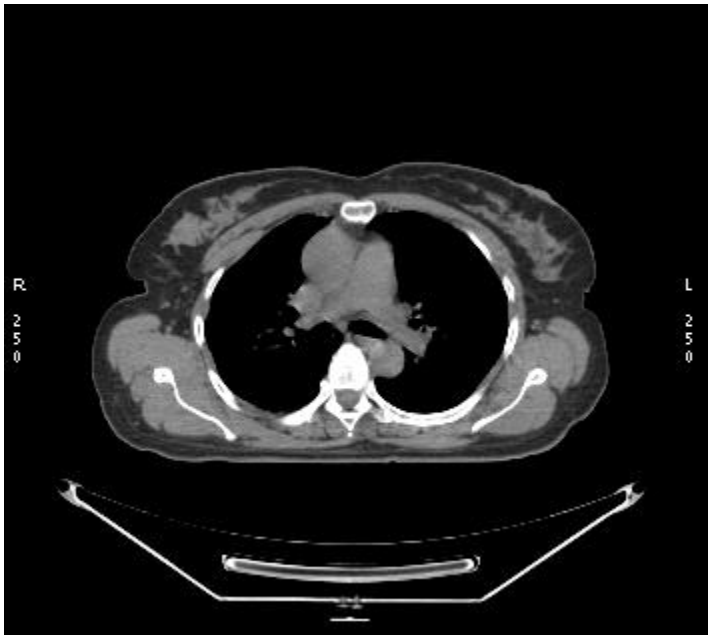


Figura 93. Corte transversal de estudo tomográfico de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para estadiamento inicial de neoplasia mamária.

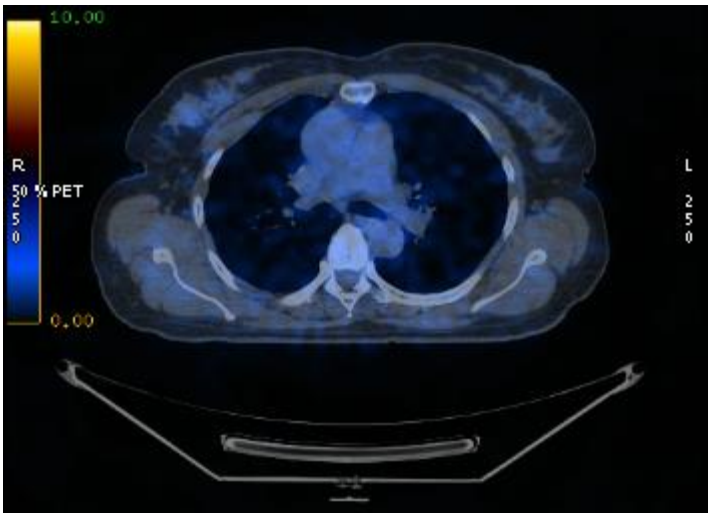


Figura 94. Corte transversal da imagem de fusão de estudos tomográficos, por tomografia de emissão de positrões e por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico, efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para estadiamento inicial de neoplasia mamária.

Figura 95. Corte transversal da imagem de estudo tomográfico por tomografia de emissão de positrões efectuado no contexto de um estudo de PET/CT para estadiamento inicial de neoplasia mamária.

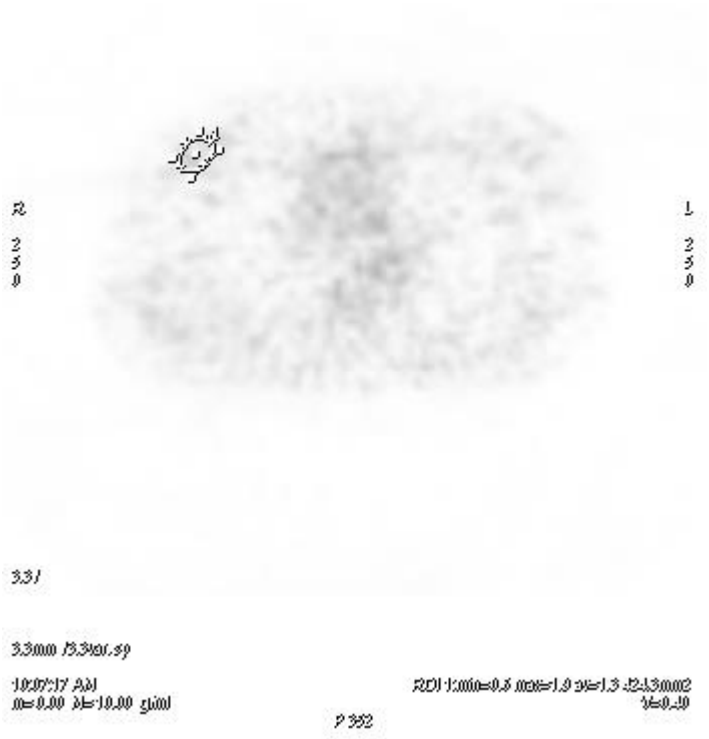


Figura 96. Cálculo do SUV ($SUV_{máx}$ = 1,6; $SUV_{méd}$ = 1.3) em corte transversal da imagem de estudo PET.

O resultado da biópsia revelou, neste caso, carcinoma ductal invasivo com possível componente lobular invasivo associado. A análise histológica revelou apenas presença da componente de carcinoma lobular invasivo, G2, RE+, PR+ e HER2-. Foi verificada a presença de um único nódulo mamário e classificação final T3N0M0.

7.2.2 Resultados

Os resultados da análise descritiva dos resultados relativos à captação de ^{18}F-FDG em tumores primitivos ou recidiva local de cancro da mama, em estudos PET/CT, pré terapêutica sistémica, encontram-se ilustrados nas tabelas incluídas em Anexos 6 e 7. Estes resultados incluem números e percentagens de casos, valores máximos e mínimos, médias, desvios padrão e tipo de carcinoma determinado por biópsia, e por análise histológica e expressão génica e hormonal, distribuição de $SUV_{máx}$ e $SUV_{médio}$, número de nódulos e quadrantes envolvidos, classificação TNM e grau de diferenciação de Bloom.

O tipo de tumor encontrado mais frequentemente na nossa amostra foi o carcinoma ductal invasivo (n=38 (48%)), seguido de um tipo misto de tumor, o carcinoma invasivo com componente *in situ* (n=15 (18,9%)), dados representados na figura 97. Contudo, da análise estatística, resultaram apenas diferenças estatisticamente significativas entre os valores de $SUV_{máx}$

dos carcinomas ductais invasivos e dos carcinomas ductais *in situ*, de acordo com os resultados da Tabela 21.

Tabela 21. Comparação de valores de SUV (médios e máximos) por tipo histológico de tumor (teste de *Games-Howell*):

			Diferença média (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
						Limite inferior	Limite superior
$Suv_{Máx}$	Ca ductal invasivo	Ca lobular invasivo	4,63716	2,20638	0,308	-1,9849	11,2593
		Ca ductal in situ	6,96216*	2,11167	0,024	0,6271	13,2973
		Ca invasivo com componente in situ	2,87466	2,40663	0,837	-4,2519	10,0012
		Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	3,16216	3,08855	0,886	-13,6248	19,9492
		Ca ductal invasivo com componente metaplásico	-5,53784	2,60943	0,377	-15,6170	4,5413
	Ca lobular invasivo	Ca ductal invasivo	-4,63716	2,20638	0,308	-11,2593	1,9849
		Ca ductal in situ	2,32500	0,91047	0,271	-1,7082	6,3582
		Ca invasivo com componente in situ	-1,76250	1,47027	0,831	-6,4885	2,9635
		Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	-1,47500	2,43083	0,975	-43,7552	40,8052
		Ca ductal invasivo com componente metaplásico	-10,17500	1,78296	0,152	-31,9003	11,5503
	Ca ductal *in situ*	Ca ductal invasivo	-6,96216*	2,11167	0,024	-13,2973	-0,6271
		Ca lobular invasivo	-2,32500	0,91047	0,271	-6,3582	1,7082
		Ca invasivo com componente in situ	-4,08750	1,32391	0,062	-8,3223	0,1473
		Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	-3,80000	2,34521	0,695	-59,1754	51,5754
		Ca ductal invasivo com componente metaplásico	-12,50000	1,66433	0,153	-45,4873	20,4873
	Ca invasivo com componente *in situ*	Ca ductal invasivo	-2,87466	2,40663	0,837	-10,0012	4,2519
		Ca lobular invasivo	1,76250	1,47027	0,831	-2,9635	6,4885
		Ca ductal in situ	4,08750	1,32391	0,062	-0,1473	8,3223
		Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	0,28750	2,61395	1,000	-27,3754	27,9504
		Ca ductal invasivo com componente metaplásico	-8,41250	2,02552	0,140	-21,7340	4,9090
		Ca ductal invasivo	-3,16216	3,08855	0,886	-19,9492	13,6248

	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Ca lobular invasivo	1,47500	2,43083	0,975	-40,8052	43,7552
		Ca ductal in situ	3,80000	2,34521	0,695	-51,5754	59,1754
		Ca invasivo com componente in situ	-0,28750	2,61395	1,000	-27,9504	27,3754
		Ca ductal invasivo com componente metaplásico	-8,70000	2,80179	0,312	-35,5019	18,1019
	Ca ductal invasivo com componente metaplásico	Ca ductal invasivo	5,53784	2,60943	0,377	-4,5413	15,6170
		Ca lobular invasivo	10,17500	1,78296	0,152	-11,5503	31,9003
		Ca ductal in situ	12,50000	1,66433	0,153	-20,4873	45,4873
		Ca invasivo com componente in situ	8,41250	2,02552	0,140	-4,9090	21,7340
		Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	8,70000	2,80179	0,312	-18,1019	35,5019
$Suv_{Méd}$	Ca ductal invasivo	Ca lobular invasivo	1,88041	0,96288	0,387	-1,0050	4,7658
		Ca ductal in situ	2,90541	0,97972	0,056	-0,0497	5,8605
		Ca invasivo com componente in situ	1,19916	1,12326	0,892	-2,1276	4,5259
		Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	1,20541	1,50992	0,947	-8,8140	11,2248
		Ca ductal invasivo com componente metaplásico	-2,69459	1,15319	0,294	-7,1004	1,7112
	Ca lobular invasivo	Ca ductal invasivo	-1,88041	0,96288	0,387	-4,7658	1,0050
		Ca ductal in situ	1,02500	0,45529	0,365	-1,0295	3,0795
		Ca invasivo com componente in situ	-0,68125	0,71356	0,926	-2,9490	1,5865
		Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	-0,67500	1,23584	0,982	-27,3113	25,9613
		Ca ductal invasivo com componente metaplásico	-4,57500	0,75980	0,160	-15,4842	6,3342
	Ca ductal *in situ*	Ca ductal invasivo	-2,90541	0,97972	0,056	-5,8605	0,0497
		Ca lobular invasivo	-1,02500	0,45529	0,365	-3,0795	1,0295
		Ca invasivo com componente in situ	-1,70625	0,73612	0,245	-4,0896	0,6771
		Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	-1,70000	1,24900	0,768	-26,3325	22,9325
		Ca ductal invasivo com componente metaplásico	-5,60000	0,78102	0,110	-15,1975	3,9975
	Ca invasivo com componente *in situ*	Ca ductal invasivo	-1,19916	1,12326	0,892	-4,5259	2,1276
		Ca lobular invasivo	0,68125	0,71356	0,926	-1,5865	2,9490
		Ca invasivo com componente in situ	1,70625	0,73612	0,245	-0,6771	4,0896

		Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	0,00625	1,36450	1,000	-14,3921	14,4046
		Ca ductal invasivo com componente metaplásico	-3,89375	0,95492	0,105	-8,9715	1,1840
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Ca ductal invasivo	-1,20541	1,50992	0,947	-11,2248	8,8140
		Ca lobular invasivo	0,67500	1,23584	0,982	-25,9613	27,3113
		Ca ductal in situ	1,70000	1,24900	0,768	-22,9325	26,3325
		Ca invasivo com componente in situ	-0,00625	1,36450	1,000	-14,3921	14,4046
		Ca ductal invasivo com componente metaplásico	-3,90000	1,38924	0,378	-19,2650	11,4650
	Ca ductal invasivo com componente metaplásico	Ca ductal invasivo	2,69459	1,15319	0,294	-1,7112	7,1004
		Ca lobular invasivo	4,57500	0,75980	0,160	-6,3342	15,4842
		Ca ductal in situ	5,60000	0,78102	0,110	-3,9975	15,1975
		Ca invasivo com componente in situ	3,89375	0,95492	0,105	-1,1840	8,9715
		Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	3,90000	1,38924	0,378	-19,2650	11,4650

*. A diferença média é significativa no nível 0,05.

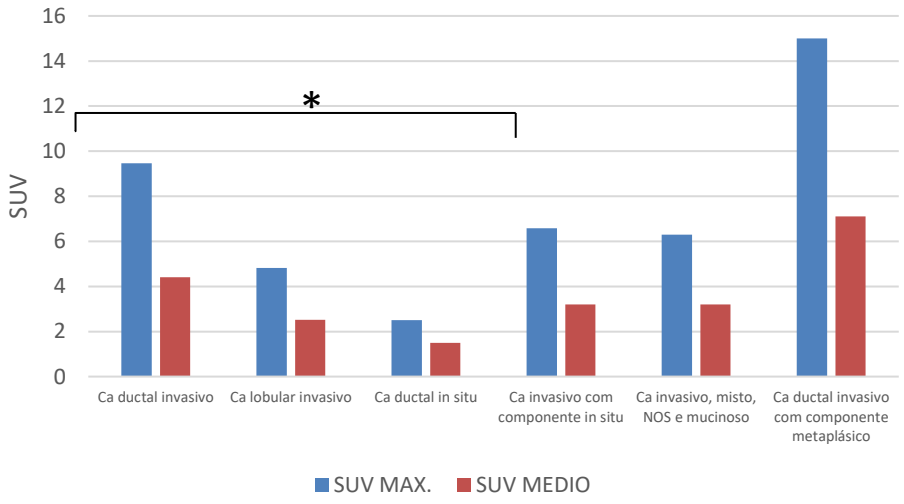


Figura 97. Variação de valores médios de SUV, de acordo com o tipo histológico. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 2 ensaios. A significância estatística está representada com * para $p < 0,05$, com ** para $p < 0,01$ e com *** para $p < 0,001$.

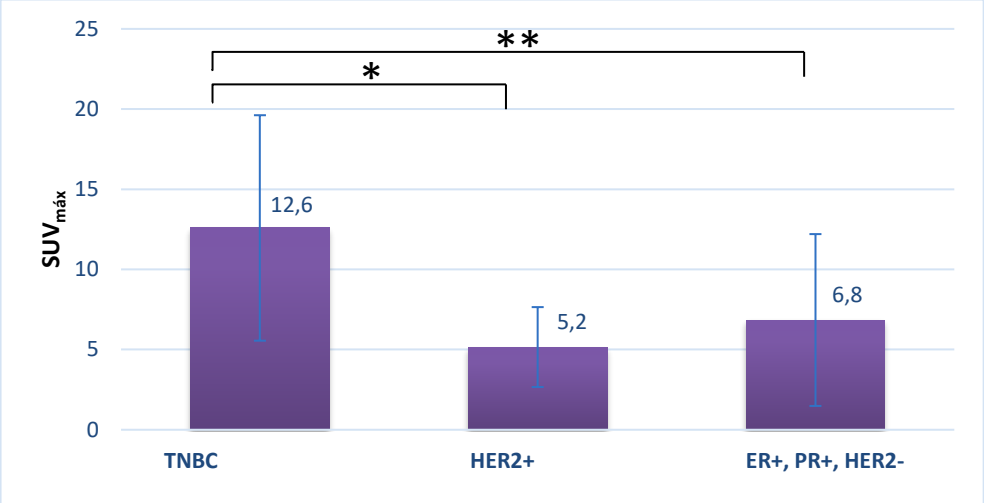
Não foi possível encontrar correlação significativa entre fenótipo molecular e histologia.

A captação *in vivo* de ^{18}F-FDG foi superior (em relação aos restantes tipos celulares) para os tumores triplos negativos (a média de $SUV_{máx}$=12,6 ± 7,0). Tumores HER2+ e tumores ER+, PR- e HER2-, apresentaram valores semelhantes de captação de ^{18}F-FDG (média de, respectivamente, $SUV_{máx}$=5,2 ± 2,5 e $SUV_{máx}$=6,6 ± 3,0). As figuras 98 e 99, representam a variação de $SUV_{máx}$ e $SUV_{méd}$ entre tumores TNBC, (ER+,PR+,HER2-) e com expressão de HER2. As diferenças estatísticas entre resultados relativos aos 3 grupos de tumores considerados, com fenotipagem distinta, encontram-se na tabela 22.

Tabela 22. Comparação de valores de SUV (médios e máximos) por tipo molecular de tumor (teste de *Bonferroni*):

Variável dependente			Diferença média (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
						Limite inferior	Limite superior
$Suv_{Máx}$	HER2+	TNBC	-10,33333*	3,59697	0,017	-19,1883	-1,4783
		(ER+,PR+, HER2-)	1,76151	2,52063	1,000	-4,4438	7,9668
	TNBC	HER2+	10,33333*	3,59697	0,017	1,4783	19,1883
		(ER+,PR+, HER2-)	12,09484*	3,58088	0,004	3,2795	20,9102
	(ER+,PR+, HER2-)	HER2+	-1,76151	2,52063	1,000	-7,9668	4,4438
		TNBC	-12,09484*	3,58088	0,004	-20,9102	-3,2795
$Suv_{Méd}$	HER2+	TNBC	-5,25185*	1,56498	0,004	-9,1045	-1,3992
		(ER+,PR+, HER2-)	0,89775	1,09668	1,000	-1,8020	3,5976
	TNBC	HER2+	5,25185*	1,56498	0,004	1,3992	9,1045
		(ER+,PR+, HER2-)	6,14960*	1,55797	0,001	2,3142	9,9850
	(ER+,PR+, HER2-)	HER2+	-0,89775	1,09668	1,000	-3,5976	1,8020
		TNBC	-6,14960*	1,55797	0,001	-9,9850	-2,3142

*. A diferença média é significativa no nível 0,05.



expressão de HER2 e respectivas barras de erro. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 9 amostras. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.

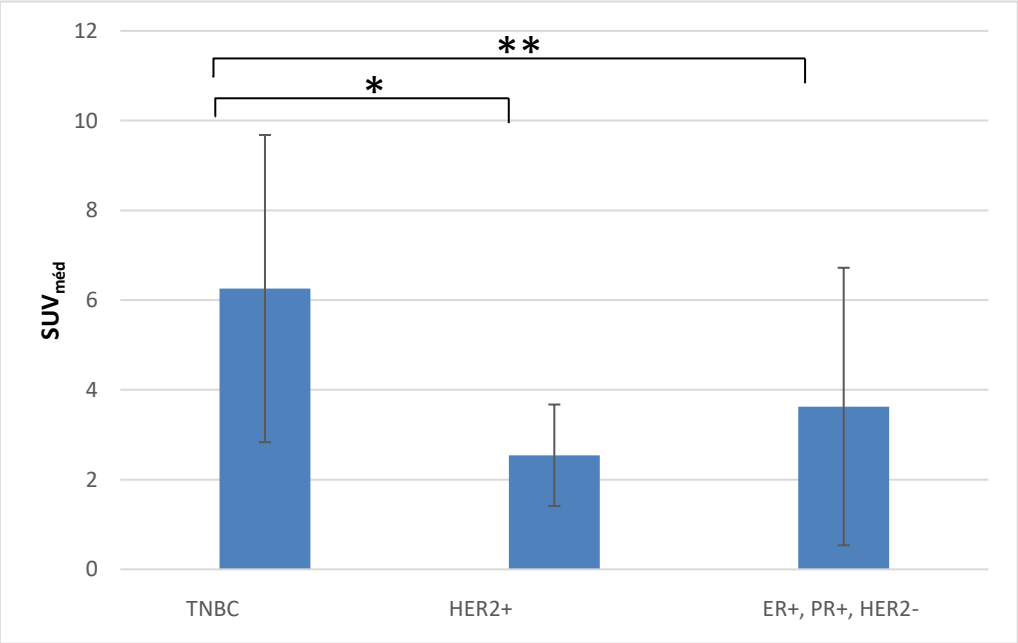


Figura 99. Variação de $SUV_{méd}$ entre tumores TNBC, (ER+,PR+,HER2-) e com expressão de HER2 e respectivas barras de erro. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 9 amostras. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.

Foram aplicados testes não paramétricos de *Mann-Whitney* para comparação de valores de $SUV_{máx}$ entre tumores com e sem expressão de ER. Estes, mostraram diferenças

estatisticamente significativas entre os grupos, de acordo com o representado na figura 100. Mediana dos valores de $SUV_{máx}$ mais alta em tumores com expressão de ER.

Ranks

	GRUPO: RE	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SUV MAX.	Não	23	46,98	1080,50
	Sim	54	35,60	1922,50
	Total	77		

Test Statistics[a]

	SUV MAX.
Mann-Whitney U	437,500
Wilcoxon W	1922,500
Z	-2,043
Asymp. Sig. (2-tailed)	,041

a. Grouping Variable: Receptores Estrogéneo

NPar Tests

Figura 100. Teste de *Mann-Whitney* para avaliação da variação de $SUV_{máx}$ entre tumores com e sem expressão de ER.

Comparação de valores de $SUV_{máx}$ entre tumores com e sem expressão de PR foi também efectuada com recurso a testes de *Mann-Whitney*, que não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, de acordo com o representado na figura 101. Mediana de valores de $SUV_{máx}$, mais alta em tumores com expressão de PR.

Mann-Whitney Test

Ranks

	Receptores Progesterona	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SUV MAX.	Não	32	41,73	1335,50
	Sim	43	35,22	1514,50
	Total	75		

Test Statistics[a]

	SUV MAX.
Mann-Whitney U	568,500
Wilcoxon W	1514,500
Z	-1,280
Asymp. Sig. (2-tailed)	,200

a. Grouping Variable: Receptores Progesterona

NPar Tests

Figura 101. Resultados de teste de *Mann-Whitney* para avaliação da variação de $SUV_{máx}$ entre tumores com e sem expressão de PR.

Foram igualmente comparados valores de $SUV_{máx}$ entre tumores com e sem expressão de HER2, também com recurso a testes de *Mann-Whitney*, que não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, de acordo com o representado na figura 102. Mediana de valores de $SUV_{máx}$, mais elevada em tumores sem expressão de HER2.

Mann-Whitney Test

Ranks

	HER 2	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SUV MAX.	Não	48	40,30	1934,50
	Sim	28	35,41	991,50
	Total	76		

Test Statistics[a]

	SUV MAX.
Mann-Whitney U	585,500
Wilcoxon W	991,500
Z	-,932
Asymp. Sig. (2-tailed)	,352

a. Grouping Variable: HER 2

Figura 102. Resultados de teste de *Mann-Whitney* para avaliação da variação de $SUV_{máx}$ entre tumores com e sem expressão de HER2.

Relativamente ao grau de diferenciação de Bloom, os valores de SUV (médio e máximo) aumentam com o aumento do grau de diferenciação tumoral, sendo que G1 corresponde a tumores diferenciados, G2 a tumores moderadamente diferenciados e G3 a tumores indiferenciados, de acordo com o representado na figura 103. Contudo, apenas se verificam diferenças estatisticamente significativas entre $SUV_{máx}$ de tumores G1 e G2, de acordo com os resultados da tabela 23.

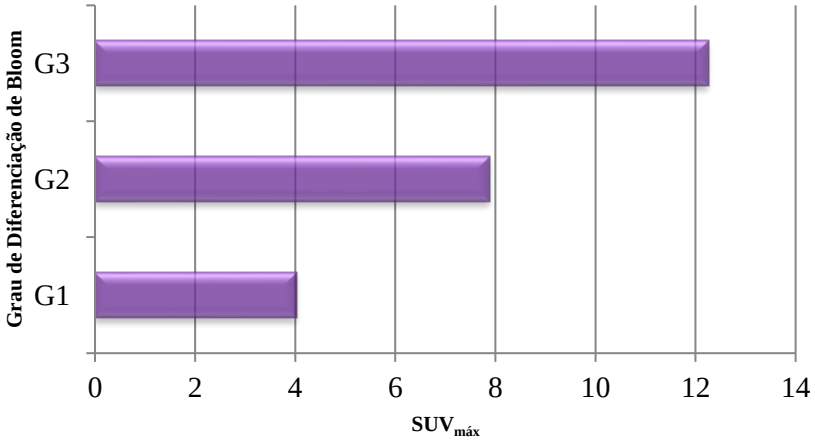


Figura 103. Variação de valores de $SUV_{máx}$ consoante o grau de diferenciação de Bloom.

Tabela 23. Comparação de valores de SUV (médios e máximos) por grau tumoral (teste de *Games-Howell*):

Variável dependente			Diferença média (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
						Limite inferior	Limite superior
$Suv_{máx}$	G1	G2	-3,85709*	1,56343	0,047	-7,6739	-0,0403
		G3	-8,22917	4,22771	0,160	-19,1945	2,7362
	G2	G1	3,85709*	1,56343	0,047	0,0403	7,6739
		G3	-4,37207	4,33590	0,582	-15,5057	6,7615
	G3	G1	8,22917	4,22771	0,160	-2,7362	19,1945
		G2	4,37207	4,33590	0,582	-6,7615	15,5057
$Suv_{méd}$	G1	G2	-1,42635	0,68914	0,119	-3,1535	0,3008
		G3	-3,88167	2,11035	0,190	-9,3425	1,5791
	G2	G1	1,42635	0,68914	0,119	-0,3008	3,1535
		G3	-2,45532	2,10783	0,491	-7,9092	2,9986
	G3	G1	3,88167	2,11035	0,190	-1,5791	9,3425
		G2	2,45532	2,10783	0,491	-2,9986	7,9092

*. A diferença média é significativa no nível 0,05.

No que diz respeito à variação dos valores de SUV de acordo com o tamanho do tumor, não foi encontrada uma correlação significativa na nossa amostra. No entanto, verifica-se uma tendência de aumento dos valores de SUV, tanto médios quanto máximos, apenas se registando diferenças estatisticamente significativas entre os tumores T0 e T4. A distribuição de valores de $SUV_{máx}$ e $SUV_{méd}$ de acordo com o tamanho do tumor encontra-se representada na figura 104. Os resultados da análise estatística encontram-se na tabela 24.

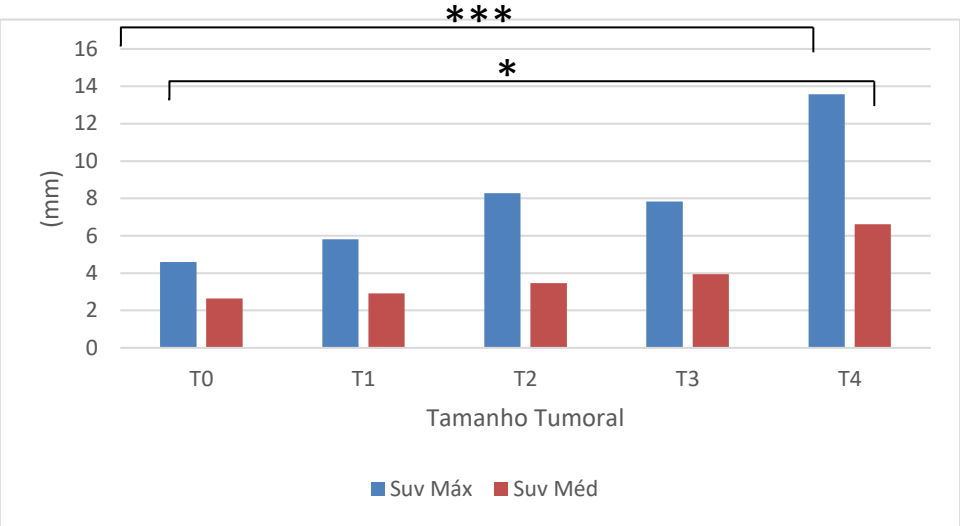


Figura 104. Variação de valores de SUV (médios e máximos) de acordo com o tamanho do tumor. Os valores apresentados exprimem a média e o erro padrão de pelo menos 14 amostras. A significância estatística está representada com * para p < 0,05, com ** para p < 0,01 e com *** para p < 0,001.

Tabela 24. Comparação de 2 a 2 de valores de SUV (médios e máximos) por tamanho tumoral (comparações dois a dois):

	$SUV_{máx}$	$SUV_{méd}$
T0 e T1	0,146	0,13
T0 e T2	0,407	0,57
T0 e T3	0,172	0,286
T0 e T4	0,001	0,02

*. A diferença média é significativa no nível 0,05.

Relativamente à variação dos valores de SUV (máximos e médio) de acordo com o número de nódulos, não foi encontrada uma correlação significativa na nossa amostra. Os resultados da análise estatística encontram-se na tabela 25.

Tabela 25. Comparação de 2 a 2 de valores de SUV (médios e máximos) por número de tumores:

Estatísticas de teste[a,b]

	$Suv_{máx}$	$Suv_{méd}$
Qui-quadrado	3,722	2,909
gl	2	2
Significância Assint.	0,155	0,234

a. Teste Kruskal Wallis
b. Variável de Agrupamento: Grupos/Número Nódulos

8. Discussão

O cancro da mama é uma patologia heterogénea com subtipos e características moleculares muito distintas. Os subtipos podem ser definidos por testes de matriz genética, ou por aproximações a esta classificação usando técnicas de IHQ.[141,154,515–518] Fenótipos moleculares e subtipos tumorais são obtidos a partir de uma combinação de factores biológicos de prognóstico envolvendo a determinação por IHQ da presença de ER e de PR, a detecção de sobre-expressão e/ou amplificação do oncogene humano do HER-2 e determinação do índice proliferativo KI-67, um marcador de proliferação celular. Para além disso, os diversos subtipos de cancro da mama estão associados a diferentes factores de risco epidemiológicos, têm diferentes histórias naturais e mostram diferentes respostas a terapêuticas sistémicas e locais.[516,519–521]

A PET com ^{18}F-FDG pode fornecer informações importantes sobre metabolismo e prognóstico de tumores malignos. No entanto, a ampla variabilidade dos valores de SUV obtidos no tecido mamário levou, a que a utilidade desta técnica fosse muito questionada no cancro da mama. Por norma, o tecido mamário normal apresenta captação baixa e difusa de ^{18}F-FDG com SUV da ordem de 1,5 ou menos. SUV de 2,0 ou rácio tumor/fundo de 2,5 ou mais, podem sugerir presença de tecidos malignos na mama.[522]

Correlações entre $SUV_{máx}$ de tumores malignos mamários e características histopatológicas e imuno-histoquímicas foram investigadas em vários estudos. Alguns deles demostraram relações entre factores de prognóstico biológico isolados e metabolismo.[3,523,524] No entanto, ainda pouco se sabe acerca das variações das características metabólicas do cancro da mama em relação ao seu subtipo molecular.[516] Alguns estudos com foco em tumores TNBC, mostraram que os valores semi-quantitativos da lesão primária nesse grupo foram significativamente maiores do que os valores no grupo de controlo com ER positivo e HER2 negativo.[525–527] Estes resultados vão de encontro aos obtidos no presente estudo. No nosso trabalho, foram detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os SUVs calculados para os diferentes fenótipos moleculares. No entanto, esta conclusão pode ser relativamente precipitada uma vez que, na grande maioria dos casos incluídos neste trabalho, a classificação molecular disponível incluiu apenas o estado de ER, PR e HER2 sendo, por isso, limitada. Neste trabalho, os tumores foram divididos em: (ER+, PR+ e HER2-); HER2+ (que incluiu tumores (ER-, PR-, HER2++) e também tumores (ER+, PR+, HER2+)) e (ER-, PR-; HER2-), aqui denominados triplos negativos, o que constitui apenas uma aproximação aos subtipos de cancro da mama baseados no fenótipo molecular. Nesta classificação, não é considerada a influência de nenhum dos restantes marcadores IHQ, incluindo HER1, P53, CK 5/6/14/17, EGFR e P-caderina,

nem do índice de proliferação KI-67, o que, potencialmente, pode influenciar os resultados obtidos. Uma outra limitação é que os tumores aqui ditos TNBC incluem, na realidade, duas categorias distintas de cancro da mama: tipo basal e normal *Breast-like*. Para além disso, a classificação da amplificação de HER2 apenas em positiva ou negativa, não tem em conta a taxa proliferativa em casos ER+ e PR+ ou ER+ e PR-. As limitações referidas não são, no entanto, exclusivas deste estudo. Como nem sempre é viável a obtenção de informações de matriz de expressão de genes, a classificação IHQ usando ER, PR e marcadores de substituição HER2, continua a ser uma aproximação conveniente da verdadeira classe molecular, que foi confirmada pela análise de conjuntos de genes.[141,520] Estudos anteriores classificaram os tumores nas quatro categorias: Luminal A [ER (+) ou PR (+) e HER2 (-)], Luminal B [ER (+) ou PR (+) e HER2 (+)], HER2 [ER (-) e PR (-) e HER2 (+)] e basal [ER (-) e PR (-) e HER (2-)].[528,529] Outros estudos relataram que tumores triplo-negativos ou basais possuem SUVs significativamente mais elevados do que outros tumores.[530,531] Groheux et al.[526] encontraram SUVs de 9,2 em tumores TNBC, em comparação com 5,8 nos demais tumores, incluindo doentes sujeitos a quimioterapia neoadjuvante. No nosso trabalho, a média de $SUV_{máx}$ foi de 12,6 (±7,0) para os tumores triplos negativos. Tumores HER2+ e tumores ER+, PR- e HER2-, apresentaram valores semelhantes de captação de ^{18}F-FDG (média de, respectivamente, $SUV_{máx}$=5,2 ± 2,5 e $SUV_{máx}$=6,6 ± 3,0), sugerindo um papel importante do índice de proliferação tumoral, KI-67 no metabolismo de tumores metabolicamente mais activos. De salientar ainda que a nossa amostra incluiu doentes com estádios tumorais predominantemente avançados. 43% dos casos estudados (n=34) apresentavam T≥3 e 57% (n=45) apresentavam metastização à distância. De todas as doentes incluídas no nosso estudo, apenas n=2 (2,5%) apresentaram estadiamento M0 após realização da PET/CT. Destes dois casos, um apresentava estadiamento relativo ao tumor, T3 e outro, T1. Em termos de envolvimento ganglionar, somente n=6 doentes (7,5%) apresentaram estadiamento N0 após realização da PET. A prevalência de envolvimento ganglionar nesta amostra (92,5%) foi, pois, muito elevada. Das 6 doentes sem envolvimento ganglionar, 4 apresentavam, contudo, metastização à distância (M≠0). A classificação histológica actual e o sistema de estadiamento do cancro da mama não são ideais. Doentes com tipos histológicos de tumores e estádios da doença semelhantes apresentam, frequentemente, diferentes prognósticos e respostas à terapêutica.[137,139] Variações nos programas de transcrição contribuem para muita da diversidade biológica das células tumorais.[136,137,139,153] A determinação do perfil molecular pode predizer o comportamento biológico e o padrão de disseminação de tumores malignos individuais, evitando carência de tratamentos adequados ou aplicação de terapêutica desnecessária (sobre-terapêutica) tanto loco/regional como sistémica.[154–156] Assim, carcinomas da mama clinicamente designados de ER-, basais e HER2+, devem ser tratados como doenças distintas.[136,142]

Relativamente à expressão de receptores hormonais, o nosso estudo encontrou diferenças estatisticamente significativas entre tumores ER+ e ER-, com valores de SUV significativamente

mais elevados nos tumores ER-, do que nos tumores ER+ (p=0.041). Este achado está, também, de acordo com os resultados de alguns estudos presentes na literatura.[532,523,533,534] Estudos efectuados anteriormente observaram uma correlação positiva entre a expressão de GLUT-1 e expressão de ER-alfa mas não de ER-beta.[535] Relativamente à expressão de PR, este estudo não encontrou diferenças estatisticamente significativas entre tumores PR+ e PR- (p=0,200). Este achado é igualmente concordante com os resultados de alguns estudos presentes na literatura.[532] A expressão de PR ocorre, em geral, em tumores ER+, embora nem todos os carcinomas ER+ expressem PR. A presença de ambos os receptores indica um estado funcional mais próximo da célula mamária normal, não tumoral. Ou seja, estes tumores têm morfologia e funções mais semelhantes às das células de origem sendo, portanto, menos agressivos e metabolicamente menos activos. A ausência de expressão de PR constitui um factor indicador de menor diferenciação celular, sobretudo se esta negatividade estiver associada a altas taxas de proliferação celular. A ausência de ambos os receptores (ER e PR) reflecte um grau mais acentuado de perda de diferenciação e maior agressividade biológica, dados sugeridos pelo aumento da captação de ^{18}F-FDG em tumores triplos negativos. A expressão de ER por parte das células tumorais, indica que, pelo menos parte da proliferação celular, é dependente de estimulação de estrogénio. Assim sendo, é possível travar o crescimento celular através da imposição de bloqueios hormonais, alcançados por administração de terapêutica hormonal. Este tipo de abordagem terapêutica inclui todas as modalidades de tratamento que visam reduzir as ligações entre os receptores hormonais e as hormonas correspondentes ou a redução da produção de estrogénio pelo organismo. Enquadram-se neste contexto todos os medicamentos que visam inibir a síntese de estrogénio, como aqueles que reduzem a actividade da aromatase, responsável pela síntese de estrogénios em vários tecidos, como no tecido adiposo. Outra opção, mais drástica e para casos seleccionados, implica a remoção cirúrgica dos ovários. No segundo grupo estão as drogas que pretendem dificultar e/ou competir com os estrogénios na sua ligação com o receptor. Na caracterização dos tumores ER+ é, ainda, importante a determinação do grau de contribuição desta via de estimulação celular para o crescimento tumoral. Os receptores esteróides são proteínas solúveis que constituem um subtipo de receptores nucleares localizados permanentemente no citoplasma ou no núcleo celular. Existem pelo menos quatro vias de acção, três delas denominadas genómicas, ou seja, que actuam directamente ao nível do DNA celular. A via clássica de acção dos estrogénios envolve a ligação entre a hormona e o seu receptor, seguida de migração deste complexo para o núcleo e ligação directa ao DNA, em local denominado *elementos sensíveis a hormonas* (HREs, do inglês *Hormone Responsive Elements*), que são sequências de DNA situadas na região promotora dos genes activados pelo complexo hormona/receptor. Como este complexo activa a transcrição de determinados genes, estas hormonas podem também ser denominadas indutoras da expressão genética. A activação da transcrição de genes é muito mais lenta do que a acção de sinais que afectam directamente as proteínas já existentes. Como

consequência, os efeitos das hormonas que se unem a receptores nucleares são produzidos a longo prazo. As características da regulação génica não são, no entanto, ainda totalmente conhecidos. As vias genómicas estão envolvidas na proliferação celular e na síntese de várias proteínas importantes, incluindo a proteína PR. Na via de activação não genómica, o complexo hormona/receptor não migra para o núcleo, mas actua na membrana celular activando uma cascata de eventos que culmina com maior potência na estimulação da proliferação celular. Outros fenómenos relacionados com a agressividade biológica, como a angiogénese e a imortalização celular, permitem que as células cancerígenas proliferem indefinidamente. Esta via é bem mais rápida do que a clássica e não é bloqueada pelas drogas convencionais, respondendo por muitas das falhas de resposta terapêutica. Além disto, quando esta via ocorre, os tumores têm maior actividade proliferativa e não se associam a síntese de PR. Assim, é possível prever que tumores ER+ com alta actividade proliferativa e sem expressão concomitante do PR apresentam maior probabilidade de não responderem tão bem ou de desenvolverem resistência ao tratamento hormonal. As hormonas ováricas, particularmente o estrogénio podem, assim, constituir um dos mecanismos de regulação dos GLUTs, sendo sabido que um grande número de tumores da mama expressa receptores de estrogénio que regulam várias actividades celulares por modulação do metabolismo no decorrer do crescimento e progressão tumoral. Os receptores de estrogénio, factores de transcrição dependentes de ligandos, desempenham um papel importante no desenvolvimento e progressão do cancro da mama, bem como no tratamento de doentes com cancro da mama.

Conclusão de diversas publicações é de que o transporte de glicose regulado por hormonas não é apenas mediado por transportadores de membrana. Em biópsias de cancro da mama não foi determinada uma correlação positiva entre a captação de glicose determinada por ^{18}F-FDG e a expressão de GLUTs.[413] Por outro lado, outros estudos revelaram que maior expressão de transportadores de membrana não significa necessariamente níveis mais elevados de captação de glicose.[536] Outros estudos ainda, demonstram que os transportadores GLUT 1 e 3 não demonstram uma correlação estatisticamente significativa com a captação de ^{18}F-FDG em tumores do pulmão potencialmente ressecáveis.[537] Estes resultados poderiam ser explicados se a fosforilação de glicose pela hexoquinase em vez do transporte de glicose, fosse considerado o passo limitativo na captação de glicose.[301] Foram igualmente publicados resultados que indicam que o tratamento de adipócitos com estrogénio causa uma redução da capacidade da insulina estimular o transporte de glicose, atestando uma interacção destas duas cascatas de sinalização.[538]

A mama é um dos tecidos alvo clássicos para acção das hormonas sexuais esteróides. A isoforma GLUT-1, expressa no tecido mamário em condições normais, encontra-se sobre-expressa no cancro da mama e apresenta elevada associação com o processo de metastização. Uma vez que o cancro da mama é predominantemente relacionado ao estrogénio, isto sugere, à partida, a existência de uma correlação entre a expressão de GLUTs e esta hormona, apesar de

alguns estudos reportarem a inexistência de correlação entre o estado dos receptores de estrogénio e a expressão de GLUTs.[413] Deste modo, o papel do estrogénio sobre a sobre-expressão de GLUTs permanece apenas alusivo, particularmente pela observação de que em muitos cancros da mama em estádio avançado, a expressão de receptores de estrogénio deixa de existir.[301]

Elevadas taxas de glicólise e de expressão de transportadores de glicose foram especificamente identificadas em células humanas de cancro da mama. Para além disso, a expressão de GLUT-1 foi demonstrada como característica em biópsias de cancro da mama, com correlação positiva entre essa expressão e grau tumoral, extensão da proliferação e invasão. Recentemente, outros autores investigaram a significância clínica da expressão de GLUT-1 em cancro da mama nos humanos e determinaram uma correlação significativa entre a expressão de GLUT-1 e o estado de estrogénio e progesterona, resultados que estão de acordo com estudos *in vitro*, nos quais a indução de diferenciação celular de células humanas de cancro da mama resultou na redução da expressão da proteína GLUT-1. Estes resultados enfatizam o envolvimento da transformação maligna na desregulação da expressão de transportadores de glicose e consequentemente no aumento do metabolismo da glicose e da glicólise. A ligação do estrogénio ao seu receptor induz actividades metabólicas e fisiológicas críticas através da activação de vários genes que respondem ao estrogénio. Esta hormona demonstrou estimular o metabolismo da glicose e a glicólise em vários órgãos alvo e demonstrou ainda que a glicólise regulada por estrogénio é mediada pela alteração dos níveis de expressão de GLUT-1.

Relativamente ao tipo histológico do tumor, foram encontrados no nosso estudo, valores de SUV mais elevados para carcinomas com componente invasiva do que carcinomas *in situ*. Carcinomas mistos também apresentaram valores de SUV, em média, mais elevados do que carcinomas de tecido único. Foram também observados SUV mais baixos em carcinomas lobulares invasivos do que em carcinomas ductais invasivos. Este achado está de acordo com o de outros estudos presentes na literatura e deve-se, muito possivelmente, a uma densidade celular mais reduzida, infiltração difusa dos tecidos circundantes níveis baixos de expressão de GLUT-1 nos tecidos e possível reduzida taxa de proliferação dos tumores não invasivos ou lobulares invasivos.[6,523,532,539–542] Apesar de apenas dois doentes nesta amostra apresentarem carcinoma ductal invasivo com componente metaplástico, é importante referir os elevados valores de SUV encontrados (média de $SUV_{máx}$=15 e $SUV_{méd}$=7,1), valores que estão, também, de acordo com o encontrado noutros estudos.[543] É, actualmente, reconhecido que este tipo de tumores apresenta uma biologia tumoral inerentemente mais agressiva e associada a pior desfecho clínico.[544] Vários estudos demonstraram que a PET/CT com ^{18}F-FDG apresenta maior valor diagnóstico em casos de carcinoma ductal invasivo do que em casos de carcinoma lobular invasivo.[540] Os resultados do nosso estudo vão de encontro a essas conclusões, com os primeiros tipos de tumores a apresentarem valores de SUV mais elevados. A captação de ^{18}F-FDG foi significativamente inferior para tumores do tipo ductal *in situ* relativamente a tumores do tipo ductal invasivo

(p=0,024). Os valores de SUV foram também, em média, inferiores para tumores do tipo lobular invasivo, apesar de não terem sido verificadas diferenças estatisticamente significativas. A ausência de diferenças estatisticamente significativas entre grupos de tumores pode, no nosso caso, dever-se a uma grande dispersão do tipo de tumores incluídos no estudos. Ao todo, esta amostra incluiu 17 tipos histológicos de tumores, alguns dos quais (n=9) com apenas 1 amostra. Esta ampla dispersão contribui para um elevado erro associado à amostra que, no entanto, apresenta tendências médias de valores de SUV distintos entre grupos tumorais. Apesar de não nos ter sido possível verificar a correlação com a expressão de KI-67 nos tumores envolvidos no estudo, outros autores avançam a expressão do índice proliferativo como potencial explicação para esse achado, com a presença de mais núcleos positivos para o KI-67 em tumores do subtipo ductal, relativamente a tumores do tipo lobular.[413,545,546] Tumores com elevada actividade proliferativa necessitam de mais glucose para proliferação celular e energia. Vários estudos têm demonstrado este mecanismo de elevado metabolismo de glicose em tumores mais proliferativos, através da correlação significativa entre captação de ^{18}F-FDG e expressão de KI-67 em tumores da mama do tipo ductal invasivo. Os mesmo estudos não encontraram, contudo, uma correlação significativa entre a captação de ^{18}F-FDG e o índice KI-67 em tumores do tipo lobular.[413,540] Dado que a proliferação celular rápida é uma característica fundamental para a agressividade biológica, os marcadores de proliferação celular têm sido avaliados em estudos de cancro da mama.[547] Nos doentes com cancro da mama, a proliferação celular está inversamente relacionada com a sobrevivência.[548] O anticorpo monoclonal KI-67, identificado em 1983, reage com uma proteína nuclear, presente exclusivamente em células em proliferação, pelo que se correlaciona com a fracção em fase S com o índice mitótico.[547,548] A determinação da expressão do KI-67, tem-se tornado num dos métodos preferidos de avaliação da actividade proliferativa das células tumorais e a ausência da sua quantificação constitui um dos factores limitadores do nosso estudo.[547] Em secções de tecido fresco congelado, o índice de proliferação KI-67 demonstrou um valor prognóstico significativo, em diversos estudos de cancro da mama.[549,550] A expressão elevada de KI-67, tem sido associada a um tempo mais curto de sobrevivência livre de doença, a diminuição da sobrevivência global e também a diminuição da sobrevivência após recidiva loco-regional.[550–556] O anticorpo MIB1 (do inglês, *E3 ubiquitin-protein ligase*), é uma enzima codificada pelo gene MIB1 e envolvida na regulação da apoptose. É reactivo contra a proteína nuclear do KI-67, podendo ser utilizado em tecidos incluídos em parafina, e confirmou em diversos estudos, o valor prognóstico do KI-67, demonstrando uma boa correlação entre a marcação por MIB1 e KI-67.[549,550,553,554,557–562] O valor prognóstico do MIB1 foi verificado mesmo em carcinomas *in situ* e em cancros sem invasão ganglionar. Uma elevada expressão do KI-67 foi determinada em tumores do tipo triplo negativo e uma expressão baixa nos tumores do tipo Luminal.[550,557,560–563] Além do valor prognóstico a nível de sobrevivência, a elevada expressão de KI-67, tem também sido associada a idades jovens e elevados graus histológicos de diferenciação.[550] Nos estudos de

caracterização da expressão génica do cancro da mama, o KI-67 tem sido identificado como um dos genes envolvidos nos *scores* predictivos de recidiva do cancro da mama.[267] Contudo, apesar dos inúmeros artigos publicados que analisam o valor prognóstico do KI-67 no cancro da mama, ainda não é um marcador prognóstico de rotina, principalmente devido à falta de consenso internacional, relativamente aos métodos de recuperação antigénica e coloração, bem como à ausência de métodos de classificação consensuais.[547,562] Directamente relacionado com a expressão de KI-67, o grau tumoral constitui também um importante factor predictivo em cancro da mama. Para o presente trabalho, foram seleccionados apenas graus de diferenciação tumoral bem definidos, ou seja, G1, G2 ou G3. Casos em que o grau de diferenciação de Bloom foi G1/G2 ou G2/G3 foram excluídos. Foi encontrada uma correlação positiva entre alto grau tumoral e os valores de SUV (SUV 12,3 para Grau 3 vs 7,9 para Grau 2 vs 4,0 para Grau 1). Este achado encontra-se, também, de acordo com os resultados de outros estudos efectudos.[1,523,543,545,564–566] Tem sido frequentemente levantada a hipótese de que a captação de ^{18}F-FDG possa reflectir o grau tumoral e a proliferação celular, sendo esperado que tumores menos diferenciados e de crescimento mais rápido metabolizem maior quantidade de glicose para maior produção de energia e como alicerce para a biossíntese. Muito embora esta hipótese pareça intuitiva, a correlação entre a captação de ^{18}F-FDG e o grau de diferenciação celular tem sido relatada como baixa em diversos estudos realizados, incluindo no nosso estudo.[567–570] No entanto, alguma discrepância existente entre os dados presentes na literatura pode, em parte, ser devida a diferenças na gama e distribuição dos índices de expressão de KI-67 e nos métodos de quantificação utilizados. No entanto, os factores técnicos não podem, por si só, servir de explicação à ausência de correlação entre a captação de ^{18}F-FDG e a expressão de KI-67, uma vez que outros estudos comparativos têm demonstrado uma correlação muito estreita entre a captação de timidina (análoga da fluorotimidina) e a expressão de KI-67.[568]

A correlação entre grau tumoral e captação de ^{18}F-FDG tem também sido extensivamente estudada em diversos tipos de tumores. Vários estudos demonstraram a existência de uma correlação estatisticamente significativa entre captação de ^{18}F-FDG e grau tumoral. Contudo, no geral, a associação foi fraca, com uma considerável sobreposição entre os graus tumorais individuais. Correlações relativamente fortes têm sido descritas ente a classificação do tumor e a captação de ^{18}F-FDG, em doentes com gliomas e sarcomas.[571,572] No entanto, vários tumores benignos ou malignos *borderline*, tais como tumores de células gigantes, demonstram captação intensa de ^{18}F-FDG.[573] Da mesma forma, astrocitomas juvenis poliquísticos demonstram elevada captação de ^{18}F-FDG, apesar da sua aparência histopatológica benigna e prognóstico favorável.[574] Em resumo, a evidência actual sugere que proliferação e grau de diferenciação celulares influenciam a captação tumoral de ^{18}F-FDG, sendo também claro que as elevadas taxas metabólicas de tumores malignos não podem ser explicadas por um índice proliferativo aumentado ou pela perda de diferenciação celular, só por si.[315]

O tamanho das lesões tumorais constitui, também, um importante factor limitativo da técnica de PET/CT e um dos mais importantes em termos de impacto na sensibilidade deste teste em termos de detecção de tumores primários da mama. A introdução da CT como parte do estudo híbrido, ajudou a melhorar a resolução espacial da técnica PET/CT. Contudo, é ainda assim, problemática a detecção de lesões de tamanho inferior a 4mm. O nosso estudo não encontrou correlação entre o tamanho das lesões e os valores de SUV. Outros estudos obtiveram o mesmo tipo de resultado.[413,540] Devido a esta limitação, diversos estudos presentes na literatura referem que a PET/CT com ^{18}F-FDG, não apresenta utilidade diagnóstica na detecção de tumores mamários primários com dimensões inferiores a 10mm, pela limitada resolução espacial da técnica e menor densidade de células metabolicamente activas em tumores com essas dimensões. Assim, estudos PET/CT com ^{8}F-FDG, não têm indicação clínica nem na detecção de tumores primários nem em triagem.[575] A utilidade da PET/CT recai, no entanto, na avaliação de doença metastática em tumores de maiores dimensões e também na avaliação da resposta à terapêutica. Estudos recentes sugerem a utilidade da PET/CT na detecção de doença mamária recorrente, com suspeita baseada em elevação assimptomática de marcadores tumorais e técnicas convencionais negativas. Estes indicadores podem servir como guia orientador da utilização de PET/CT com ^{18}F-FDG em oncologia, perante elevação assimptomática de marcadores tumorais. [576,577–580] Testes sanguíneos de marcadores tumorais são medidas metabólicas de crescimento tumoral de actividade tumoral, integrando de forma muito positiva a informação metabólica por imagem. A associação entre marcadores tumorais de PET/CT parece ser uma combinação perfeita, dada a possibilidade de fornecer informação metabólica qualitativa e quantitativa de forma conjugada. Concentrações de marcadores tumorais expressam a medida sanguínea de produtos tumorais e o conteúdo por pixel das imagens morfológicas está relacionado com a captação tumoral.[581] A associação de informação de marcadores tumorais com a de PET/CT apresenta um impacto importante na gestão da abordagem à terapêutica do doente. O conceito de "medicina personalizada", que sugere a aplicação de terapêuticas baseadas nas características únicas do tumor de cada doente, tem vindo a ganhar corpo como abordagem face à elevada heterogenia tumoral mamária. Assim, a combinação de imagem molecular com ^{18}F-FDG encontra-se na linha da frente do desenvolvimento teste tema. A selecção de biomarcadores prognósticos e com valor predictivo é, portanto, crucial e, no campo dos tumores mamários, a PET/CT com ^{18}F-FDG, pode ter um papel preponderante.[576] Os resultados do presente trabalho sugerem que critérios histológicos e biológicos podem ser considerados, para além do estádio clínico, na definição dos melhores candidatos para estudos basais de PET/CT com ^{18}F-FDG na avaliação de patologia mamária, o que suporta a teoria da aplicação da denominada medicina personalizada. Factores como grau tumoral, tripla negatividade e histologia metaplásica são factores associados a elevada captação tumoral de ^{18}F-FDG no presente estudo. Estes factores patológicos e biológicos são, também, conhecidos pelo pobre prognóstico associado e elevado risco de presença de metástases

ocultas à distância. Como tal, estes doentes podem ser bons candidatos a estadiamento inicial com ^{18}F-FDG.[532,576] Alguns estudos sugerem que a intensidade de captação de ^{18}F-FDG em estudos PET/CT no tumor primitivo poderia apresentar valor prognóstico.[582,583]

O papel da PET/CT na avaliação de envolvimento ganglionar em carcinoma da mama é limitado sobretudo pela baixa resolução da técnica. Contudo, apesar da baixa sensibilidade da técnica, a especificidade da mesma é bastante elevada, com alguns autores a referirem especificidades de 95%.[584]

A captação de ^{18}F-FDG medida num tecido por métodos de quantificação de imagem de estudos PET é a soma de três componentes: concentração intracelular de ^{18}F-FDG fosforilada, concentração intracelular de ^{18}F-FDG não fosforilada, e concentração intravascular de ^{18}F-FDG não fosforilada. Apenas a componente de ^{18}F-FDG fosforilada está directamente relacionada com a actividade metabólica das células tumorais. Medidas estáticas de captação de ^{18}F-FDG, incapazes de diferenciar estas três componentes do sinal de PET não são, por conseguinte, necessariamente correlacionadas com taxas metabólicas de glicose. A quantificação de taxas metabólicas de ^{18}F-FDG implica a aquisição de imagens do tecido ao longo do tempo de captação da molécula e a sua depuração do sangue, ou seja, *dual time point imaging*. Utilizando modelos cinéticos de cálculo é, então, possível uma quantificação fidedigna do fluxo de ^{18}F-FDG no tecido tumoral. No entanto, estes modelos exigem a aquisição de múltiplas imagens da região tumoral durante cerca de uma hora. Uma vez que o campo de visão axial dos sistemas PET é de cerca de 15 a 20 centímetros, estes estudos tornam-se limitados, sendo raramente utilizados na avaliação clínica do doente. Em vez disso, a captação de ^{18}F-FDG é geralmente quantificada pelos SUVs. Esta forma de quantificação representa a concentração de actividade no tecido tumoral, num ponto fixo do tempo, normalizada para a actividade de ^{18}F-FDG administrada e para o peso corporal do doente. A premissa básica subjacente à utilização dos SUVs é que, em períodos de tempo suficientemente tardios após a injecção, as concentrações intravascular e intracelular não fosforilada de ^{18}F-FDG, tornam-se tão reduzidas que podem ser negligenciadas, relativamente à concentração de ^{18}F-FDG fosforilada presente no tecido tumoral. Neste caso, é possível verificar que a taxa de fosforilação de ^{18}F-FDG é directamente proporcional ao SUV.[333] Embora os SUVs possam ser facilmente obtidos por rotina a partir de imagens PET de corpo inteiro, é importante considerar o facto de estes valores serem influenciados por uma variedade de outros factores que não a utilização de glicose pelo tumor. Esses factores incluem tempo decorrido entre a injecção e a aquisição da imagem, tamanho da lesão, parâmetros de reconstrução e resolução espacial específica do equipamento PET.[585] Para além disso, a ^{18}F-FDG tem, naturalmente, uma afinidade diferente para os transportadores de glicose e para a hexoquinase do que a glicose. As taxas metabólicas da ^{18}F-FDG são, consequentemente, distintas das taxas metabólicas da glicose, facto demonstrado pela variação da razão entre as duas taxas metabólicas estabelecida para diferentes tecidos. Considerando todos estes factores, torna-se evidente que os SUVs não devem ser

considerados medidas precisas de utilização de glicose pelos tecidos tumorais. Não obstante, estes valores têm sido declaradamente úteis na monitorização de alterações induzidas pela terapêutica quanto à utilização de glicose pelos tumores, ao longo do tempo. Neste contexto, muitos dos factores de desvantagem descritos tendem a ser anulados, sendo que a reprodutibilidade dos SUVs avaliada por estudos de avaliação e reavaliação de doença é praticável, desde que os estudos PET sejam adquiridos segundo protocolos padronizados.[585,586]

Relativamente aos resultados obtidos *in vitro*, verificaram-se diferenças estatisticamente significativas entre a captação de ^{18}F-FDG em condições de LG e HG, com as três linhas celulares de cancro da mama estudadas a apresentarem captação mais elevada em condições de LG. Estas diferenças são justificadas pelo facto de a captação de ^{18}F-FDG em células tumorais ser afectada pelos níveis de glicose do meio (sanguíneo, no caso de aplicações em doentes), uma vez que há competição entre o transporte de glicose endógena e moléculas de ^{18}F-FDG. A captação de ^{18}F-FDG por células cancerígenas tende a diminuir à medida que aumentam as concentrações de glicose e insulina no sangue. Este facto é consistente com os resultados obtidos neste estudo, com diferentes níveis de captação de ^{18}F-FDG em linhas celulares propagadas em meios com diferentes concentrações de glicose. A captação de ^{18}F-FDG diminuiu em todas as linhas celulares quando propagadas em HG, comparativamente com a captação das mesmas linhas celulares em LG, com excepção das HCC1806. Na práctica clínica, estudos PET/CT com ^{18}F-FDG em doentes com diabetes descontrolada e jejum inferior a 4h pode ser difícil de gerir e são caracterizados por captação de ^{18}F-FDG aumentada no tecido cardíaco e músculos esqueléticos.[546,587]

Em condições de LG, foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre o nível de expressão de GLUT-1(M), GLUT-1(C), GLUT-3(M), GLUT-3(C) e GLUT-12(M) nas diferentes linhas celulares estudadas. Contudo, verificou-se a existência de uma correlação negativa entre a captação *in vitro* de ^{18}F-FDG e a expressão de GLUT-1, GLUT-3 e GLUT-12 nas mesmas linhas celulares. A linha celular tripla negativa, HCC1806, apresentou, entre as restantes, os níveis mais reduzidos de captação de ^{18}F-FDG, de acordo com a relativamente baixa expressão de transportadores de membrana. Nas restantes linhas celulares, é de realçar a elevada expressão de GLUT-12(M) associada à linha celular MCF-7 e a elevada expressão de GLUT-1(M) associada à linha celular HCC1954. Na linha celular HCC1806, os transportadores de glicose com maior expressão foram os GLUT-12(M). Diversos estudos procuraram correlacionar os níveis de expressão das proteínas transportadoras de glicose e de hexoquinase com os níveis de captação celular de ^{18}F-FDG. Neste contexto, vários estudos têm indicado que a isoforma GLUT-1 é abundante em células cancerígenas e que os níveis de expressão desta proteína, determinados por imunohistoquímica, se correlacionam com a captação de ^{18}F-FDG.[569,588–590] No

nosso estudo, apenas no caso das HCC1954, se pode considerar a expressão de GLUT-1 como preponderante na membrana celular. Alguns estudos não indicam, no entanto, tal associação, sugerindo, por outro lado, que a captação celular de ^{18}F-FDG se correlaciona com níveis aumentados de expressão de hexoquinase.[591,592] Este achado é equivalente aos resultados obtidos no nossos estudo, dada a correlação negativa entre a captação *in vitro* de ^{18}F-FDG e a expressão de transportadores de glicose. Outros estudos encontraram uma correlação estatisticamente significativa entre os níveis de captação de ^{18}F-FDG e de expressão de GLUT-1 e hexoquinase, enquanto outros, encontraram uma correlação da captação de ^{18}F-FDG com GLUT-1, mas não com os níveis de hexoquinase.[593,594] No nosso caso, não foi possível, infelizmente, a determinação dos níveis de hexoquinase, quantificação que teria sido pertinente, dada a correlação inversa obtida entre captação e transportadores de glicose, sugerindo o envolvimento de outros factores no metabolismo da glicose. De referir que, mesmo em estudos nos quais foram encontradas correlações significativas entre a captação de ^{18}F-FDG e os níveis de expressão de hexoquinase ou de GLUT-1, os coeficientes de correlação foram frequentemente baixos. Algumas dessas correlações foram obtidas *in vivo*, e os seus resultados inesperados e, por vezes, discordantes podem, possivelmente, ser explicados pelas diferenças técnicas utilizadas no que diz respeito à aquisição e análise do estudo PET/CT, bem como no que respeita às técnicas usadas para imunohistoquímica de coloração e quantificação da expressão da proteína. Para além disso, e como foi abordado anteriormente, existem três isoformas da hexoquinase e diversas isoformas independentes de transportadores de glicose (GLUT-1, GLUT-3 e GLUT-12) que podem manifestar aumento da expressão nas mais distintas formas de cancro.[595] Podem, portanto, ser consideradas inúmeras explicações para a discrepância verificada nestes resultados. O recurso à coloração por imunohistoquímica para um transportador apenas, tal como GLUT-1 pode, por exemplo, ser ilusório. Talvez até mesmo mais importante do que os factores referidos, é o facto de o transporte de glicose e de a actividade da hexoquinase não serem regulados apenas ao nível proteico, mas também por vários outros mecanismos. Por exemplo, alguns estudos demonstraram que a actividade da hexoquinase depende da localização sub-celular da enzima com vínculo mitocondrial à hexoquinase, demonstrando actividade marcadamente superior à da hexoquinase citosólica.[536] Por outro lado, as taxas de transporte passivo de glicose para o interior da membrana plasmática podem sofrer diminuição caso ocorra um aumento dos níveis intracelulares de glicose. A existência de diversos mecanismos reguladores serve, provavelmente, de explicação para a ausência de uma correlação estreita e esclarecida entre os níveis de expressão de GLUTs e de hexoquinase e a captação de ^{18}F-FDG.[315] Apesar de se assumir que os elevados níveis de captação de ^{18}F-FDG pelos tumores reflectem predominantemente um aumento da captação de glicose, a actividade enzimática envolvida no metabolismo glicolítico pode também influenciar o conteúdo celular de ^{18}F-FDG captado na imagem. Têm vindo a ser relatadas em alguns tipos tumorais actividades aumentadas de hexoquinase, responsável pela fosforilação de glicose e actividades

reduzidas de glicose-6-fosfatase que desfosforila a glicose-6-fosfato.[334,335] Estas alterações de actividade enzimática resultam na acumulação de ^{18}F-FDG fosforilada em células cancerígenas, independentemente da captação de glicose, uma vez que o ^{18}F-FDG-6-fosfato não prossegue, para além deste estado, na via glicolítica, nem consegue mover-se através da membrana celular. Estudos dirigidos à importância relativa destes factores tendem a favorecer a expressão dos transportadores de glicose em detrimento da actividade enzimática como factor primordial de captação de ^{18}F-FDG.[336–338] Contudo, é bastante provável que alterações nas actividades de fosforilação e desfosforilação contribuam igualmente para a acumulação do radiofármaco nos tumores.[339] A molécula de ^{18}F-FDG apenas sofre as duas primeiras etapas do metabolismo da glicose (transporte pelos transportadores de membrana e fosforilação por hexoquinase). No entanto, é importante notar que as taxas de captação de ^{18}F-FDG, reflectem a utilização pelas células cancerígenas da glicose exógena, desde que os doentes sejam mantidos em estado estacionário aquando da realização do estudo PET. Em condições de estado constante, as concentrações dos vários metabolitos produzidos durante a glicólise não sofrem alterações e o fluxo de glicose através da membrana celular é igual à utilização de glicose exógena total. Como consequência, as taxas de captação de ^{18}F-FDG não dependem apenas da actividade dos transportadores de glicose e da hexoquinase mas, também, da actividade das moléculas de intervenientes na eliminação de metabolitos, tais como a fosfofrutoquinase e a piruvato-quinase, duas importantes moléculas reguladoras da actividade glicolítica.[433,434] Foram reconhecidos 3 mecanismos responsáveis pela utilização aumentada de glicose por células tumorais: sobre-expressão de GLUT; actividade aumentada da hexoquinase; e níveis reduzidos de glicose-6-fosfatase. Apenas um desses mecanismos foi estudado neste trabalho. É geralmente assumido que a captação aumentada de glicose (traduzida pela captação de ^{18}F-FDG nas imagens PET) é muito dependente da taxa de glicólise e a captação e retenção do radiofármaco ocorrem devido à sobre-expressão de transportadores de glicose (particularmente GLUT1 e GLUT3) e de hexoquinases I e II.[437,588,596,597] Apesar de o controlo metabólico sobre a taxa da glicólise poder ser aplicado em várias etapas da via glicolítica, a grande maioria de estudos sobre cancro sustenta a hipótese de que o controlo sobre o fluxo de glicólise reside sobretudo, nas fases de transporte e fosforilação.[598–600] A PET com ^{18}F-FDG permite também a quantificação da captação de glicose. Vários estudos correlacionaram de forma consistente um prognóstico pouco favorável e agressividade tumoral aumentada com captação tumoral também aumentada.[601,602] Para além disso, tumores hipóxicos que dependem de glicólise amplificada para sobreviverem, são frequentemente[603–607] mais invasivos e metastáticos do que tumores com níveis de oxigénio normais. Estes resultados demonstram a importância do metabolismo glicolítico e tornaram a determinação do fenótipo glicolítico no objectivo principal da oncologia clínica.[280] Foi relatada a expressão de GLUT-5 em células mamárias malignas, mas não em células mamárias normais, ou seja, em condições normais esta isoforma não é expressa nos tecidos mamários. O bloqueio da

expressão desta isoforma revelou reduzir o crescimento das células malignas em causa.[394] Biópsias de cancro da mama e linhas celulares de cancro da mama têm demonstrado expressão de GLUT-5, facto que sugere que vários subtipos desta doença utilizam frutose como fonte energética na proliferação descontrolada.[301] Contudo, a expressão de GLUT-5 não foi verificada nas linhas celulares utilizadas neste estudo.

Relativamente à caracterização da expressão de ER, PR e HER2, feita por citometria, verificou-se que a expressão de ER relativa à linha celular MCF-7 varia consoante a concentração do meio de cultura. Assim, verificaram-se diferenças significativas na expressão de ER, nas MCF-7, em meio com elevada concentração de glicose, relativamente ao meio com reduzida concentração de glicose. O mesmo padrão não se verifica relativamente à expressão de PR e HER2 nesta linha celular, não sendo verificadas diferenças consideráveis consoante a concentração de glicose no meio de cultura. Relativamente aos resultados da expressão de PR, parecem não existir diferenças na distribuição de PR entre linhas celulares estudadas, quer em HG, quer em LG. Já a expressão de HER2 apresenta diferenças consideráveis entre linhas celulares propagadas tanto em condições de HG, como em condições de LG. Essas diferenças dizem sobretudo respeito a um aumento da dispersão da expressão de HER2 na linha celular HCC1954 quando propagada em LG. Linhas celulares de cancro da mama demonstram *in vitro*, capacidade proliferativa aumentada, quando tratadas com 17β-estradiol (E_2) e *in vivo*, a formação tumoral por células MCF-7 em ratinhos nudos é dependente da presença de E_2. O tratamento de linhas celulares de cancro da mama com E_2, demonstrou ainda estimular o metabolismo da glicose, ao aumentar a taxa de utilização de glicose por glicólise e pelo TCA.[608–610] Pensa-se que o mecanismo subjacente a este efeito está relacionado com os receptores de estrogénio (ER), uma vez que células tratadas com tamoxifeno (antagonista de ER) demonstraram taxas inferiores de consumo de glicose relativamente a células tratadas com E_2, o que comprova a eficácia da principal droga anti-estrogénica utilizada no contexto terapêutico, estabelecendo melhoria do tempo de sobrevivência tanto entre mulheres em idade pré como pós-menopausa. Para além disso, demonstrou ainda reduzir a incidência de cancro e prevenir novas formações e crescimento tumorais.[610] Outros estudos sugerem que alterações induzidas por estrogénio em células de cancro da mama parecem ser mediadas pela regulação da expressão de GLUT-1.[598] Já estudos *in vivo*, indicam que a redução da expressão de GLUT-1 e a consequente inibição da glicólise, pode servir como marcador de avaliação de resposta à terapêutica endócrina e auxiliar na avaliação da eficácia de novos moduladores selectivos de receptores de estrogénio.

Alguns estudos efectuados procuraram verificar aumentos na expressão de GLUT-12 após exposição de linhas celulares de cancro da mama a níveis aumentados de E_2. Foi verificado um aumento da expressão desta proteína, sem alteração dos níveis de mRNA, o que sugere a existência de uma elevada taxa de translação de mRNA de GLUT-12 e/ou aumento do tempo de semi-vida deste transportador de membrana.[611] Outros estudos demonstraram a expressão de

GLUT-12 em linhas celulares com presença de ER, mas não em linhas celulares com ausência de ER, o que parece indicar que a expressão de GLUT-12 pode ser mediada por ER.[612–614]

Da comparação da expressão de KI-67, relativa a cada uma das três linhas celulares estudadas em condições distintas de concentração de glicose no meio de cultura, não resultaram diferenças estatisticamente significativas entre concentrações, para nenhuma das linhas celulares. Relativamente aos resultados da expressão de KI-67, parecem existir diferenças significativas entre linhas celulares estudadas em HG, com a linha celular HCC1806 a demonstrar maior expressão de índice proliferativo. Embora não seja possível estabelecer um paralelo entre a expressão deste índice e a captação de ^{18}F-FDG nas linhas celulares (a linha tripla negativa apresentou os menores índice de captação de entre as três linhas celulares estudadas), torna-se inevitável fazê-lo relativamente aos resultados obtidos *in vivo*, nos quais a captação de ^{18}F-FDG foi mais elevada em tumores ditos triplos negativos.

A utilização de modelos celulares neste estudo, torna imprescindível a discussão em torno da utilização das mesmas como modelo de investigação. A utilização de linhas celulares é transversal a várias técnicas de investigação laboratorial, sendo particularmente usuais como modelos *in vitro* na pesquisa relacionada com a oncologia. Apresentam um grande número de vantagens como, por exemplo, facilidade de manuseamento e o facto de representarem uma fonte auto-replicativa teoricamente ilimitada que pode propagar-se em quantidades quase infinitas. Para além disso, exibem um grau relativamente elevado de homogeneidade, sendo facilmente substituídas a partir de *stocks* congelados caso se percam por contaminação. Contudo, apresentam também desvantagens, de entre as quais deve ser destacada a sua propensão a alterações fenotípicas e genotípicas em cultura contínua. Este acontecimento é particularmente comum entre as linhas celulares utilizadas com maior frequência, especialmente naquelas que se encontram depositadas em bancos celulares há vários anos. O desenvolvimento de subpopulações pode provocar alterações fenotípicas no seio de uma população original, ao longo do tempo, pela selecção específica dos clones que se desenvolvam mais rapidamente. Estudos realizados demonstraram a existência de várias discrepâncias na linha celular de cancro da mama mais utilizada, a MCF-7, obtida a partir de diferentes laboratórios.[615] Foram detectadas alterações na taxa de proliferação celular, no conteúdo de receptores hormonais, cariótipo e clonogenicidade, muito embora as células apresentassem uma aparência morfológica muito idêntica entre populações. No presente trabalho e devido à ausência de diferenças consideráveis nos estudos de captação realizados inicialmente, houve necessidade de proceder à análise da expressão de receptores hormonais, sendo que os resultados foram surpreendentes. A única linha celular caracterizada pela presença de receptores de estrogénio, apresentou, na realidade, intensidade média de fluorescência inferior à das outras linhas, caracterizadas pela ausência de receptores hormonais. Para além disso, a expressão dos receptores de estrogénio aparenta ser dependente da

presença/ausência de glicose no meio. Ao reduzir a presença de glicose no meio de cultura, a presença de RE parece aumentar. Contudo, estudos do mesmo grupo de trabalho posteriores ao nosso trabalho, comprovaram, por técnicas de W*estern Blot*, a caracterização fenotípica das linhas celulares MCF-7 e HCC1806 utilizadas no nosso estudo. Assim, as células HCC1806 correspondiam a verdadeira triplas negativas e as MCF-7 apresentavam receptores hormonais, de acordo com o descrito nas bulas relativas a ambas.[616] As alterações registadas nos resultados da citometria de fluxo obtidos para este trabalho deveram-se, muito possivelmente e tal como foi igualmente verificado por estudos do mesmo grupo de trabalho, à presença de fenol no meio de cultura. O vermelho de fenol é, em cultura celular, utilizado como indicador de pH. A sua cor exibe uma transição gradual do amarelo ao vermelho, na faixa de pH entre 6,6 e 8,0. Em valores de pH acima de 8,1, o vermelho fenol muda a cor para um cor de rosa brilhante. Esta mudança de cor observada, é causada pela perda de protões do vermelho de fenol à medida que o pH aumenta. O fenol apresenta uma estrutura semelhante aos núcleos esteróides podendo, assim, ligar-se aos receptores de estrogénio, competindo com os mesmos nos receptores de linhas linhas celulares que os expressem, podendo, deste modo, ter promovido alteração dos resultados obtidos pelas técnicas de citometria utilizadas para avaliação da expressão de ER nas linhas celulares utilizadas no nosso estudo.

Para além das MCF-7, derivada a *Michigan Cancer Foundation* (fundação da qual deriva o seu nome) em 1973, a partir de uma efusão pleural e que constitui a linha celular mais utilizada em todo o mundo para investigação relacionada com o cancro da mama, várias outras linhas são utilizadas por rotina como modelos desta doença. A maioria das linhas celulares de cancro da mama estabelecidas há muito tempo, não deriva de tumores primitivos mamários, mas de metástases do tumor, especialmente de aspirações de efusões pleurais. Isto significa que a maioria destas linhas resulta de tumores mais agressivos, frequentemente metastáticos, em vez de lesões primárias, sendo claramente pouco representativas dos diversos tipos de tumores, dos vários graus ou estádios ou das indicações de progressão tumoral observáveis em cancro da mama primário. Como tal, a pesquisa assente na utilização destas linhas celulares, como é o caso do presente trabalho, será tendenciosa, na medida em que assentará em modelos de tipos de cancro de progressão mais rápida e estádios demasiado avançados, em vez de assentar em tumores da mama de grau inferior e estádios mais precoces. Por estas razões, seria clinicamente mais relevante utilizar células de culturas primárias, procedentes directamente de tumores primários, particularmente porque, no caso deste trabalho, a caracterização dos tumores da mama tem como alvo, precisamente, os tumores primários e não as várias formas de metastização da doença.[617] Contudo, é também de referir que nos estudos clínicos envolvidos neste trabalho, foram incluídas recidivas locais de cancro da mama, pré terapêutica da doença recidivante, como forma de aproximação ao estudo do metabolismo de doença local. Uma alternativa viável à utilização de

linhas celulares, quer tradicionais, quer derivadas mais recentemente, passa pela preparação de culturas primárias, derivadas directamente dos tumores estudados. Este procedimento apresenta um grande número de vantagens, não apenas pelo facto de as células serem directamente isoladas do foco tumoral mas, também, pela disponibilidade de patologia detalhada, que permite que as características das células em cultura sejam comparadas com as do tumor original. De forma genérica, tais culturas podem ser estabelecidas como explantes, nos quais crescem populações mistas a partir de pequenos fragmentos do tecido, ou como populações enriquecidas de tipos de células definidos. Existem muitos benefícios a retirar destas populações enriquecidas de células, já que, normalmente, estas são mantidas em cultura por um período finito de tempo, tendo poucas oportunidades para sofrerem transformações do tipo detectado em culturas de células imortalizadas, estabelecidas há muito tempo. Contudo, existe também a possibilidade de que células isoladas de um tumor mamário, possam comportar-se de forma distinta em cultura, comparativamente com a sua resposta quando constituintes de um tecido/órgão, devido a interacções célula-a-célula que existem nos tecidos e que se perdem *in vitro*. A cultura celular primária tem, também, limitações, que incluem tempos lentos de duplicação de populações e tempo de vida finito antes da senescência (frequentemente as células sobrevivem apenas a duas ou três passagens). As propriedades das células cancerígenas em cultura espelham, frequentemente, o seu comportamento *in vivo*, pelo que linhas celulares de tumores originalmente invasivos formam, normalmente, tumores e metástases em camundongos, mais facilmente do que células de tumores não invasivos.[618,619] No entanto, existem excepções notáveis a esta premissa, com algumas linhas de cancro originalmente altamente invasivas *in vitro*, a não formarem tumores em ratos.[618] A base mecânica para esta discrepância permanece desconhecida, mas pode reflectir requisitos específicos para o crescimento tumoral *in vivo*, em que o meio de acolhimento do estroma influencia o desenvolvimento e progressão tumorais.[620–622] As interacções tumor/hospedeiro podem ser, na realidade, altamente selectivas como exemplificado por algumas experiências com cancro da mama em que as respectivas células cancerígenas formam tumores mais facilmente no ambiente ortotópico da camada de gordura mamária do rato do que em locais não-ortotópicos como a camada subcutânea.[623] Estes dados sugerem a existência entre uma relação muito íntima entre o tumor em desenvolvimento e as células hospedeiras circundantes, bem como com o microambiente tumoral hospedeiro, podendo constituir mais um motivo de discrepância entre os resultados obtidos *in vivo* e *in vitro* neste estudo.[624]

No presente trabalho, foram utilizadas as linhas celulares disponíveis para cultura e investigação em cancro da mama e não linhas celulares previamente selecionadas para o estudo. Tal como descrito acima, a linha celular MCF-7 deriva de efusão pleural de adenocarcinoma da mama, tipo de tumor não proliferativo, o que acarreta as limitações já descritas. Para além disso, as células triplas negativas não são de carcinoma ductal invasivo. A cultura primária foi originalmente equacionada, mas inviabilizava a execução do projecto no tempo útil disponível.

Para algumas técnicas experimentais é necessário um grande número de células, factor que pode, por vezes, ser limitativo, uma vez que o número de células desejado só pode ser obtido após várias passagens. Por este motivo, a cultura celular requer com frequência a modificação do meio de cultura, envolvendo a utilização de suplementos cujo objectivo é enriquecer o meio, fornecendo às células condições para proliferação mais rápida e maior tempo de vida útil. No presente trabalho foi necessário alterar as condições de propagação celular, pela modificação/redução do conteúdo de glicose no meio de cultura, de modo a mimetizar as condições de glicémia requeridas aos doentes para execução do exame PET/CT. Ao proceder a essa alteração, verificou-se uma alteração do comportamento de proliferação das linhas utilizadas, sendo que diminuíram os tempos de duplicação das populações, factor que conduziu a um atraso na execução das etapas de investigação, inviabilizando mesmo alguns deles (por exemplo, o número de amostras para citometria, etc.).

Na tentativa de comparar os resultados dos estudos clínico com os estudos pré clínicos *in vitro*, e possível verificar que os estudos de captação de ^{18}F-FDG em linhas celulares de cancro da mama, resultaram em captações inversamente proporcionais às obtidas nos estudos clínicos, em que células triplas negativas demonstraram maior captação de ^{18}F-FDG de entre todas as estudadas. Este facto poderá ser devido aos aspectos limitativos da utilização de linhas celulares como modelos de investigação acima referidos ou poderão, igualmente, dever-se a factores relacionados com o meio envolvente ao crescimento tumoral. A grande maioria dos tecidos tumorais apresenta elevada heterogenia celular. Células malignas contribuem para o tecido tumoral de apenas algumas até 90% da totalidade do tecido, enquanto que, até 10% do tecido tumoral, é constituído por células inflamatórias como macrófagos, tecido granuloso e áreas necróticas. Células inflamatórias e tecido granuloso também apresentam elevada captação de ^{18}F-FDG devido ao metabolismo da glicose aumentado nestas células.[546,625]

Relativamente a potenciais falhas nos métodos utilizados neste trabalho, podem ser identificados diversos factores com eventual influência nos resultados obtidos:

1. Este estudo foi baseado numa análise retrospectiva dos estudos PET/CT e relativos processos clínicos disponíveis. Deste modo, a acessibilidade aos dados foi limitada em alguns casos e a heterogeneidade nas avaliações histopatológicas e relatos dos tumores primários pode ter afectado a confiabilidade estatística dos resultados;
2. Para além disso, o número de casos *in vivo* incluídos neste estudo, foi relativamente pequeno e com informação incompleta em alguns casos;

3. Foram incluídos na amostra de estudos clínicos, não apenas tumores primitivos da mama, mas também recidivas locais, pré terapêutica de doença recidivante. Este factor pode, igualmente, originar potenciais variações dos resultados obtidos, pelo aumento da agressividade das recidivas relativamente ao tumor inicial, entre outras potenciais alterações do fenótipo da recidiva. Não foi possível comprovar o fenótipo das recidivas locais incluídas neste trabalho, uma vez que, na práctica clínica, nova caracterização fenotípica não é efectuada por rotina em caso de recidiva. No contexto do presente trabalho, isto sugere um potencial impacto em estudos de captação de ^{18}F-FDG, mas acima de tudo, um impacto maior da selecção dos meios adequados de terapêutica;
4. A utilização dos SUVs como parâmetro de quantificação nos estudos PET/CT, com todas as suas desvantagens associadas e previamente referidas. Uma delas é que medidas de SUV em tumores T1 de pequenas dimensões (<2cm), são afectadas pelo efeito de volume parcial, o que conduz a uma subvalorização dos valores e a dificuldades de discriminação do impacto de diferentes parâmetros biológicos nesta situação.[532,626,627] Para além disso, sendo este um estudo retrospectivo, os valores de SUV não foram calculados no tempo *t*. Não é, também, possível verificar a utilização dos mesmos parâmetros de aquisição e reconstrução de todos os estudos envolvidos neste trabalho;
5. O marcador de proliferação KI-67, não foi quantificado, por rotina, na maioria dos estudos clínicos incluídos nesta amostra, pelos motivos previamente discutidos. Este parece constituir um factor limitativo neste trabalho, uma vez que autores que puderam estudar a influência deste parâmetro na actividade metabólica dos seus tumores, encontraram uma correlação positiva entre a percentagem de KI-67 e os valores de SUV.[523,532,540,628,629] Para além disso, os resultados obtidos por citometria de fluxo nos estudos *in vitro* também incluídos neste trabalho, parecem corroborar a teoria de que a expressão de KI-67 poderá ter um papel fundamental no metabolismo da glicose de tumores de cancro da mama;
6. A impossibilidade de correlacionar os resultados dos estudos clínicos com a imunohistoquímica dos GLUTs constitui um factor limitativo adicional aos métodos utilizados neste trabalho;
7. A impossibilidade de selecionar linhas celulares correspondentes aos tumores estudados *in vivo*, ou, inversamente, a impossibilidade de selecionar nos estudos clínicos apenas tumores com a mesma fenotipagem da apresentada pelas linhas celulares (esta selecção iria conduzir a uma redução ainda maior da amostra disponível), inviabilizando a transposição de resultados entre os estudos clínicos e os estudos pré clínicos;
8. A impossibilidade de obter resultados de captação das linhas celulares de tecidos normais, pelo tempo prolongado de propagação, inviabilizando a sua utilização neste estudo. Para

além disso, as células de tecido normais disponíveis não eram células de tecido mamário normal, pelo que a sua utilização acabou por ser rejeitada para o presente estudo;

9. As vias de disseminação dos tumores de células escamosas são diferentes das vias utilizadas por outros tipos de células, o que pode implicar distinto metabolismo para estas células e, consequentemente, ausência de correlação entre as captações destas células e os estudos clínicos;
10. Não foi possível estudar *in vivo*, outros factores envolvidos nas vias glicolíticas com hexoquinase ou EGFR;
11. A impossibilidade de seleccionar para esta amostra, apenas casos com o mesmo estadiamento inicial.

Em relação aos pontos fortes do estudo, até onde sabemos, esta é uma das poucas correlações presentes na literatura, relatada entre o fenótipo molecular, usando as recomendações mais recentes e as características do tumor glicolítico para estabelecer o fenótipo glicolítico. Esta avaliação permitiu-nos estudar a heterogeneidade biológica das neoplasias mamárias de um ponto de vista molecular mais integrado, aplicado na clínica e na terapêutica.

9. Conclusão

O aumento da utilização da glicose pelas células cancerígenas foi descrito pela primeira vez no início do século XX, mas as causas e mecanismos subjacentes a este fenómeno estão apenas a começar a ser revelados. Dados experimentais recentes sugerem que o aumento das taxas glicolíticas das células cancerígenas não é apenas secundário à proliferação celular ou hipóxia intratumoral, mas também causado por alterações genéticas em várias vias de sinalização oncogénica, que resultam na resistência à apoptose, na limitação da fosforilação oxidativa e na activação da glicólise. A PET com ^{18}F-FDG pode vir a constituir uma ferramenta muito valiosa na confirmação clínica destas observações ou, até mesmo, no acompanhamento das vias de sinalização utilizadas para definir novos alvos terapêuticos.[315]

Múltiplos mecanismos que levam ao aumento da actividade metabólica de glicose pelas células cancerígenas têm sido identificados, sugerindo que as tentativas de atribuir o aumento da captação de ^{18}F-FDG, que ocorre em alguns tumores malignos, à elevação da expressão de uma proteína em particular, tal como a GLUT-1, não podem ser bem sucedidas, uma vez que a captação de ^{18}F-FDG reflecte uma série integrada de funções de vários transportadores de glicose e enzimas intervenientes na via glicolítica. Evidência actual indica que o fluxo glicolítico é regulado ao nível do transporte de glicose, bem como pela hexoquinase e pela actividade da fosfofrutoquinase. Em condições estacionárias de estado, todos estes processos de transporte e reacções enzimáticas afectam a captação de ^{18}F-FDG. Por outro lado, não parece haver uma causa única para o aumento da captação de ^{18}F-FDG das células cancerígenas. A captação de ^{18}F-FDG é modulada pelo meio ambiente do tumor (condições de hipóxia, por exemplo), mas é também relacionada com a activação da proliferação, de oncogenes e com a perda de genes supressores tumorais. Estes factores servem, provavelmente, de explicação para o facto de a PET/CT com ^{18}F-FDG ser tão bem sucedida no estadiamento tumoral. Se a captação de ^{18}F-FDG apenas reflectisse, por exemplo, hipóxia, seria improvável que constituísse um teste sensível para avaliação do tumor, uma vez que muitos tumores não são particularmente hipóxicos. Do mesmo modo, a ^{18}F-FDG PET não poderia ser um teste sensível, se a captação de ^{18}F-FDG fosse causada pela activação de um oncogene específico. Embora as causas multifactoriais de aumento da captação de ^{18}F-FDG pelas células tumorais sejam, portanto, vantajosas para o estadiamento do tumor, impedem também a avaliação de outros parâmetros do metabolismo da glicose pela PET com ^{18}F-FDG.[315]

O conhecimento dos factores que influenciam a captação de ^{18}F-FDG é importante na interpretação de exames PET/CT e podem fornecer informação útil em termos de biologia tumoral. Além disso, a verificação de que a captação de ^{18}F-FDG é maior em tumores com

características prognósticas mais fracas (tumores de alto grau, negatividade de receptores hormonais, tripla negatividade, tumores metaplásticos, etc.) é útil para determinar quem são os melhores candidatos para o estadiamento basal. No futuro, conhecimento acerca da biologia tumoral, obtido também através da PET/CT, poderá vir a possibilitar, potencialmente, a orientação da terapêutica.

10. Referências Bibliográficas

1. Mavi A, Cermik TF, Urhan M, et al. The Effects of Estrogen, Progesterone, and C-erbB-2 Receptor States on 18F-FDG Uptake of Primary Breast Cancer Lesions. *J Nuc Med*. 2007;48(8):1266-1272. doi:10.2967/jnumed.106.037440.
2. WHO I. GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worlwide in 2012. http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx. Accessed October 21, 2017.
3. Zytoon AA, Murakami K, El-Kholy MR, El-Shorbagy E, Ebied O. Breast cancer with low FDG uptake: characterization by means of dual-time point FDG-PET/CT. *Eur J Radiol*. 2009;70(3):530-538. doi:10.1016/j.ejrad.2008.01.045.
4. Oude Munnink TH, Nagengast WB, Brouwers AH, et al. Molecular imaging of breast cancer. *The Breast*. 2009;18(Supplement 3):S66-S73. doi:10.1016/S0960-9776(09)70276-0.
5. Waki A, Fujibayashi Y, Yokoyama A. Recent advances in the analyses of the characteristics of tumors on FDG uptake. *Nucl Med Biol*. 1998;25(7):589-592. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9804038.
6. Buck AK, Schirrmeister H, Mattfeldt T, Reske SN. Biological characterisation of breast cancer by means of PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2004;31 Suppl 1(June):S80-7. doi:10.1007/s00259-004-1529-6.
7. Ferlay J. Globocan 2008, cancer incidence and mortality worldwide. Lyon International Agency. http://globocan.iarc.fr/. Published 2010.
8. Couceiro L, Alves I, Almendra R. Doenças Oncológicas em Portugal. *Alto Comissariado da Saúde - Bol Inf*. 2009;4:4-7.
9. Miranda N, Portugal C, Nogueira PJ, et al. Portugal Doenças Oncológicas em números, 2015. *Port Doenças Oncológicas em números, 2015*. 2016:7-65. http://hdl.handle.net/10400.26/15554. Accessed October 21, 2017.
10. Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst*. 1981;66(6):1191-1308. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7017215.
11. Foulds L. The experimental study of tumor progression: a review. *Cancer Res*. 1954;14(5):327-339. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13160960.
12. Nowell PC. The Clonal Evolution of Tumor Cell Populations. *Science (80-)*. 1976;23-28:23-28.
13. IARC. *Dados Epidemiológicos de Cancro Da Mama Na População Portuguesa*. Lyon; 2011. http://globocan.iarc.fr/.
14. Hanahan D, Weinberg RA, Francisco S. The Hallmarks of Cancer. *Cell*. 2000;100:57-70.
15. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. 2011;144(5):646–674. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013.
16. Fedi, P., Tronick, S.R., and Aaronson SA. Growth Factors. In: J.F. Holland, R.C. Bast, D.L. Morton, E. Frei, D.W. Kufe, and R.R. Weichselbaum E, ed. *Cancer Medicine*. Baltimore, MD: Williams and Wilkins; 1997:41-64.
17. Lemmon MA, Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*. 2010;141(7):1117-1134. doi:10.1016/j.cell.2010.06.011.
18. Witsch E, Sela M, Yarden Y. Roles for growth factors in cancer progression. *Physiol Bethesda Md*. 2010;25(2):85-101. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20430953.
19. Hynes NE, MacDonald G. ErbB receptors and signaling pathways in cancer. *Curr Opin Cell Biol*. 2009;21(2):177-184. doi:10.1016/j.ceb.2008.12.010.
20. Perona R. Cell signalling: growth factors and tyrosine kinase receptors. *Clin Transl Oncol Off Publ Fed Spanish Oncol Soc Natl Cancer Inst Mex*. 2006;8(2):77-82. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16632420.
21. Yarden, Y., and Ullrich A. EGF and erbBe receptor overexpression in human tumors. *Annu Rev*

Biochem. 1988;57:443-478.

22. Burkhart DL, Sage J. Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene. *Nat Rev Cancer*. 2008;8(9):671-682. doi:10.1038/nrc2399.

23. Deshpande A, Sicinski P, Hinds PW. Cyclins and cdks in development and cancer: a perspective. *Oncogene*. 2005;24(17):2909-2915. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15838524.

24. Sherr CJ, McCormick F. The RB and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell*. 2002;2(2):103-112. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12204530.

25. Harris CC. p53 tumor suppressor gene: from the basic research laboratory to the clinic--an abridged historical perspective. *Carcinogenesis*. 1996;17(6):1187-1198. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8681432.

26. Adams JM, Cory S. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene*. 2007;26(9):1324-1337. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17322918.

27. Evan G, Littlewood T. A matter of life and cell death. *Science (80-)*. 1998;281(5381):1317-1322. http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.281.5381.1317.

28. Hayflick L. Mortality and immortality at the cellular level. A review. *Biochem Biokhimiia*. 1997;62(11):1180-1190. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9467840.

29. Shay JW, Bacchetti S. A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer*. 1997;33(5):787-791. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9282118.

30. Bryan TM, Cech TR. Telomerase and the maintenance of chromosome ends. *Curr Opin Cell Biol*. 1999;11(3):318-324. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10395557.

31. Blasco MA. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nat Rev Genet*. 2005;6(8):611-622. doi:10.1038/nrg1656.

32. Shay JW, Wright WE. Hayflick, his limit, and cellular ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2000;1(1):72-76. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11413492.

33. Hanahan D, Folkman J. Patterns and Emerging Mechanisms of the Angiogenic Switch during Tumorigenesis. *Cell*. 1996;86(3):353-364. doi:10.1016/S0092-8674(00)80108-7.

34. Bouck N, Stellmach V, Hsu SC. How tumors become angiogenic. *Adv Cancer Res*. 1996;69:135-174.

35. Folkman J. Tumor angiogenesis. In: J.F. Holland, R.C. Bast DL, Morton, E. Frei, D.W. Kufe and RRW, eds. *In Cancer Medicine*. Baltimore, MD: Williams and Wilkins; 1997:181-204.

36. Baeriswyl V, Christofori G. The angiogenic switch in carcinogenesis. *Semin Cancer Biol*. 2009;19(5):329-337. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19482086.

37. Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(6):401-410. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12778130.

38. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29(6):789-791. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19164810.

39. Mac Gabhann F, Popel AS. Systems biology of vascular endothelial growth factors. *Microcirc New York NY 1994*. 2008;15(8):715-738. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2722038&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

40. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology*. 2005;69 Suppl 3(suppl 3):4-10. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16301830.

41. Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*. 2010;141(1):52-67. doi:10.1016/j.cell.2010.03.015.

42. Nagy JA, Chang S-H, Shih S-C, Dvorak AM, Dvorak HF. Heterogeneity of the tumor vasculature. *Semin Thromb Hemost*. 2010;36(3):321-331. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20490982.

43. Baluk P, Hashizume H, McDonald DM. Cellular abnormalities of blood vessels as targets in cancer. *Curr Opin Genet Dev*. 2005;15(1):102-111.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15661540.

44. Christofori G, Semb H. The role of the cell-adhesion molecule E-cadherin as a tumour-suppressor gene. *Trends Biochem Sci* . 1999;24(2):73-76. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10098402.

45. Berx G, Van Roy F. Involvement of members of the cadherin superfamily in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009;1(6):a003129. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20457567.

46. Cavallaro U, Christofori G. Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(2):118-132. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14964308.

47. Klymkowsky MW, Savagner P. Epithelial-mesenchymal transition: a cancer researcher's conceptual friend and foe. *Am J Pathol*. 2009;174(5):1588-1593. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2671246&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

48. Polyak K, Weinberg RA. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(4):265-273. doi:10.1038/nrc2620.

49. Thiery JP, Acloque H, Huang RYJ, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*. 2009;139(5):871-890. doi:10.1016/j.cell.2009.11.007.

50. Yilmaz M, Christofori G. EMT, the cytoskeleton, and cancer cell invasion. *Cancer Metastasis Rev*. 2009;28(1-2):15-33. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19169796.

51. Barrallo-Gimeno A, Nieto MA. The Snail genes as inducers of cell movement and survival: implications in development and cancer. *Dev Cambridge Engl*. 2005;132(14):3151-3161. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15983400.

52. Friedl P, Wolf K. Tube travel: the role of proteases in individual and collective cancer cell invasion. *Cancer Res*. 2008;68(18):7247-7249. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18794108.

53. Friedl P, Wolf K. Plasticity of cell migration: a multiscale tuning model. *J Cell Biol*. 2010;188(1):11-19. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19951899.

54. Madsen CD, Sahai E. Cancer dissemination-lessons from leukocytes. *Dev Cell*. 2010;19(1):13-26. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20643347.

55. Sabeh F, Shimizu-Hirota R, Weiss SJ. Protease-dependent versus -independent cancer cell invasion programs: three-dimensional amoeboid movement revisited. *J Cell Biol*. 2009;185(1):11-19. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2700505&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

56. Warburg, Otto Heinrich; Dickens F. *The Metabolism of Tumours: Investigations from the Kaiser Wilhelm Institute for Biology*. (London, U. Berlin-Dahlem; 1930.

57. Warburg O. Origin of cancer cells. *Oncol*. 1956;9(2):75-83. http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nature09781.

58. Warburg O. On respiratory impairment in cancer cells. *Science (80-)*. 1956;124(3215):267-272. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13351639.

59. Jones RG, Thompson CB. Tumor suppressors and cell metabolism: a recipe for cancer growth. *Genes Dev*. 2009;23(5):537-548. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19270154.

60. DeBerardinis RJ, Lum JJ, Hatzivassiliou G, Thompson CB. The biology of cancer: metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab*. 2008;7(1):11-20. doi:10.1016/j.cmet.2007.10.002.

61. Hsu PP, Sabatini DM. Essay Cancer Cell Metabolism: Warburg and Beyond. *Cell*. 2008;134(5):703-707. doi:10.1016/j.cell.2008.08.021.

62. Yoshida GJ. Metabolic reprogramming: the emerging concept and associated therapeutic strategies. *J Exp Clin Cancer Res*. 2015;34(1):111. doi:10.1186/s13046-015-0221-y.

63. Liberti M V, Locasale JW. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? Historical Perspectives of the Warburg Effect. 2016. doi:10.1016/j.tibs.2015.12.001.

64. Pavlova NN, Thompson CB. *The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism*. Vol 23.; 2016:27-47. doi:10.1016/j.cmet.2015.12.006.

65. Semenza GL. HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism. *Curr Opin Genet Dev*.

2010;20(1):51-56. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19942427.

66. Semenza GL. Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics. *Oncogene*. 2010;29(5):625-634. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2969168&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

67. Kroemer G, Pouyssegur J. Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel. *Cancer Cell*. 2008;13(6):472-482. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18538731.

68. Potter VR. The biochemical approach to the cancer problem. *Fed Proc*. 1958;17(2):691-697.

69. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science (80-)*. 2009;324(5930):1029-1033. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19460998.

70. Vajdic CM, Van Leeuwen MT. Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation. *Int J cancer J Int du cancer*. 2009;125(8):1747-1754. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19444916.

71. Teng MWL, Swann JB, Koebel CM, Schreiber RD, Smyth MJ. Immune-mediated dormancy: an equilibrium with cancer. *J Leukoc Biol*. 2008;84(4):988-993. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18515327.

72. Kim R, Emi M, Tanabe K. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology*. 2007;121(1):1-14. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2265921&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

73. Smyth MJ, Dunn GP, Schreiber RD. Cancer immunosurveillance and immunoediting: the roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity. *Adv Immunol*. 2006;90(6):1-50. doi:10.1016/S0065-2776(06)90001-7.

74. Ferlay J, Shin H-R, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J cancer J Int du cancer*. 2010;127(12):2893-2917. doi:10.1002/ijc.25516.

75. NBCC. *The Breast Cancer Deadline: 2020; 2011 Progress Report*. Washington, DC; 2011.

76. Marshall E. Search for a Killer: Focus Shifts from Fat to Hormones. *Science (80-)*. 1993;259(5095):618-621. http://www.jstor.org/stable/2882863.

77. Weir HK, Thun MJ, Hankey BF, et al. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975-2000, Featuring the Uses of Surveillance Data for Cancer Prevention and Control. *CancerSpectrum Knowl Environ*. 2003;95(17):1276-1299. doi:10.1093/jnci/djg040.

78. Fisher B, Slack N, Katrych D, Wolmark N. *Ten Year Follow-up Results of Patients with Carcinoma of the Breast in a Co-Operative Clinical Trial Evaluating Surgical Adjuvant Chemotherapy*. Vol 140.; 1975.

79. WHO. European Health for All Database (HFA-DB). Updated: July 2011. http://data.euro.who.int/hfadb/. Published 2011.

80. Bastos J, Barros H, Lunet N. Evolução da Mortalidade por Cancro da Mama em Portugal (1955-2002). *Acta Med Port*. 2007;20:139-144.

81. Jemal A, Murray T, Ward E, et al. Cancer Statistics, 2005. *CA A Cancer J Clin*. 2005;55(1):10-30. doi:10.3322/canjclin.55.1.10.

82. Baselga J, Norton L. Focus on breast cancer. *Cancer Cell*. 2002;1(4):319-322. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12086846.

83. Clarke RB, Anderson E, Howell A, Potten CS. Regulation of human breast epithelial stem cells. *Cell Prolif*. 2003;36 Suppl 1:45-58. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14521515.

84. Ramos A da C. Estudo da expressão de ADAMTS-8 em linhas celulares de cancro da mama. *Biologia (Bratisl)*. 2008.

85. Greene FL, Compton CC. *AJCC Cancer Staging Atlas*. (Greene FL, Compton CC, Fritz AG, Winchester DP, eds.). Springer; 2006. http://www.loc.gov/catdir/toc/fy0614/2005932559.html;

86. American Joint Comission on Cancer. *AJCC CANCER STAGING MANUAL*. Seventh Ed. (EDGE

SB, BYRD DR, COMPTON CC, FRITZ AG, GREENE FL, TROTTI A, eds.). Chicago: Springer Verlag; 2010. http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:CANCER+STAGING#6. Accessed November 14, 2011.

87. Deugnier M, Teulière J, Faraldo MM, Thiery JP, Glukhova MA. The importance of being a myoepithelial cell. *Breast Cancer Res*. 2002;4(6):224-230. doi:10.1186/bcr459.

88. Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF, et al. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. *J Clin Oncol*. 1994;12(5):888-894.

89. Fowble BL, Schultz DJ, Overmoyer B, et al. The influence of young age on outcome in early stage breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1994;30(1):23-33.

90. Natarajan N, Nemoto T, Mettlin C, Murphy GP. Race-related differences in breast cancer patients. Results of the 1982 national survey of breast cancer by the American College of Surgeons. *Cancer*. 1985;56(7):1704-1709. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=4027901.

91. Joslyn SA. Racial differences in survival from breast cancer. *Jama J Am Med Assoc*. 1995;273(13):1000.

92. Hennighausen L, Robinson GW. Signaling pathways in mammary gland development. *Dev Cell*. 2001;1(4):467-475. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11703938.

93. Russo IH, Russo J. Role of hormones in mammary cancer initiation and progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 1998;3(1):49-61. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10819504.

94. Veronesi U, Goldhirsch A, Boyle P, Orecchia R, Viale G. *Breast Cancer*. Vol 365. 2nd ed. (Roses DF, ed.). Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier Inc.; 2005. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20704887.

95. Robbins SL, Kumar V, Abbas AK, Cotran RS, Fausto N. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010. http://books.google.com/books?id=mwD5Y0jMUZAC&pgis=1. Accessed November 22, 2011.

96. José Russo, Irma H. Russo, Russo J, Russo IH. *Molecular Basis of Breast Cancer: Prevention and Treatment*. Berlin: Springer Verlag; 2004.

97. Paredes J, Correia AL, Ribeiro AS, Albergaria A, Milanezi F, Schmitt FC. P-cadherin expression in breast cancer: a review. *Breast cancer Res BCR*. 2007;9(5):214. http://breast-cancer-research.com/content/9/5/214.

98. Osmany S. BREAST CANCER AND F-18 FDG PET/CT. Enterprises for Continuing Education Inc. (ECEI). cewebsource.com. Published 2011.

99. Van't Veer LJ, Dai H, Van De Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*. 2002;415(6871):530-536. doi:10.1038/415530a.

100. Dontu G, Abdallah WM, Foley JM, et al. In vitro propagation and transcriptional profiling of human mammary stem/progenitor cells. *Genes Dev*. 2003;17(10):1253-1270. doi:10.1101/gad.1061803.

101. Deng G, Lu Y, Zlotnikov G, Thor AD, Smith HS. Loss of heterozygosity in normal tissue adjacent to breast carcinomas. *Science (80-)*. 1996;274(5295):2057-2059. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8953032.

102. Yager JD, Davidson NE. Estrogen carcinogenesis in breast cancer. *N Engl J Med*. 2006;354(3):270-282. doi:10.1056/NEJMra050776.

103. Schaid DJ. Re: probability of carrying a mutation of breast-ovarian cancer gene BRCA1 based on family history. *J Natl Cancer Inst*. 1997;89(21):1632-1634. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9017003.

104. David L. Page TJA. *Diagnostic Histopathology of the Breast*. Churchill Livingstone; 1987.

105. Ottini L, Masala G, Amico CD, et al. BRCA1 and BRCA2 Mutation Status and Tumor Characteristics in Male Breast Cancer : A Population-based Study in Italy BRCA1 and BRCA2 Mutation Status and Tumor Characteristics in Male Breast Cancer : A Population-based Study in

Italy 1. *Cancer*. 2003:342-347.

106. Mettlin C. Global breast cancer mortality statistics. *CA a cancer J Clin*. 1999;49(3):138-144. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10445013.

107. Gail MH, Brinton LA, Byar DP, et al. Projecting individualized probabilities of developing breast cancer for white females who are being examined annually. *J Natl Cancer Inst*. 1989;81(24):1879-1886. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2593165.

108. Claus EB, Risch N, Thompson WD. Genetic analysis of breast cancer in the cancer and steroid hormone study. *Am J Hum Genet*. 1991;48(2):232-242. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1683001&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

109. Domchek SM, Eisen A, Calzone K, Stopfer J, Blackwood A, Weber BL. Application of breast cancer risk prediction models in clinical practice. *J Clin Oncol*. 2003;21(4):593-601. http://www.jco.org/cgi/doi/10.1200/JCO.2003.07.007.

110. Abel KJ, Xu J, Yin GY, Lyons RH, Meisler MH, Weber BL. Mouse Brca1: localization sequence analysis and identification of evolutionarily conserved domains. *Hum Mol Genet*. 1995;4(12):2265-2273.

111. FitzGerald MG, MacDonald DJ, Krainer M, et al. Germ-line BRCA1 mutations in Jewish and non-Jewish women with early-onset breast cancer. *N Engl J Med*. 1996;334(3):143-149. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8531968.

112. Holt JT, Thompson ME, Szabo C, et al. Growth retardation and tumour inhibition by BRCA1. *Nat Genet*. 1996;12(3):298-302.

113. Xu X, Wagner KU, Larson D, et al. Conditional mutation of Brca1 in mammary epithelial cells results in blunted ductal morphogenesis and tumour formation. *Nat Genet*. 1999;22(1):37-43. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10319859.

114. Shattuck-Eidens D. A collaborative survey of 80 mutations in the BRCA1 breast and ovarian cancer susceptibility gene. *J Am Med Assoc*. 1995;273:535-541.

115. Breast Cancer Facts & Figures. *Breast*. 2010:www.cancer.org. www.cancer.org.

116. Chaudhuri B, Crist KA, Mucci SJ, Thomford NR, Chaudhuri PK. Estrogen receptor in carcinoma in situ of the cervix. *J Surg Oncol*. 1992;49(2):103-106.

117. Giri DD, Dundas SA, Nottingham JF, Underwood JC. Oestrogen receptors in benign epithelial lesions and intraduct carcinomas of the breast: an immunohistological study. *Histopathology*. 1989;15(6):575-584.

118. Folca PJ, Glascock RF, Irvine WT. Studies with tritium-labelled hexoestrol in advanced breast cancer. Comparison of tissue accumulation of hexoestrol with response to bilateral adrenalectomy and oophorectomy. *Lance*. 1961;2(7206):796-798.

119. Meijnen P, Peterse JL, Antonini N, Rutgers EJT, Van De Vijver MJ. Immunohistochemical categorisation of ductal carcinoma in situ of the breast. *Br J Cancer*. 2008;98(1):137-142. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2359678&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

120. Weinstat-Saslow D, Merino MJ, Manrow RE, et al. Overexpression of cyclin D mRNA distinguishes invasive and in situ breast carcinomas from non-malignant lesions. *Nat Med*. 1995;1(12):1257-1260.

121. Rudas M, Neumayer R, Gnant MF, Mittelböck M, Jakesz R, Reiner A. p53 protein expression, cell proliferation and steroid hormone receptors in ductal and lobular in situ carcinomas of the breast. *Eur J Cancer*. 1997;33(1):39-44.

122. Mack L, Kerkvliet N, Doig G, O'Malley FP. Relationship of a new histological categorization of ductal carcinoma in situ of the breast with size and the immunohistochemical expression of p53, c-erb B2, bcl-2, and ki-67. *Hum Pathol*. 1997;28(8):974-979. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9269835.

123. Ramachandra S, Machin L, Ashley S, Monaghan P, Gusterson BA. Immunohistochemical distribution of c-erbB-2 in in situ breast carcinoma--a detailed morphological analysis. *J Pathol*. 1990;161(1):7-14. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1973459.

124. Futreal PA, Liu Q, Shattuck-Eidens D, et al. BRCA1 mutations in primary breast and ovarian carcinomas. *Science (80-)*. 1994;266(5182):120-122. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7939630.

125. Teng DH, Bogden R, Mitchell J, et al. Low incidence of BRCA2 mutations in breast carcinoma and other cancers. *Nat Genet*. 1996;13(2):241-244.

126. Esteller M, Silva JM, Dominguez G, et al. Promoter hypermethylation and BRCA1 inactivation in sporadic breast and ovarian tumors. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92(7):564-569. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10749912.

127. Harris JR. *Diseases of the Breast*. Lippincott Williams & Wilkins; 2004. http://books.google.com/books/about/Diseases_of_the_breast.html?id=vQKQUelZNaMC. Accessed November 23, 2011.

128. Malhotra GK, Zhao X, Band H, Band V. Histological, molecular and functional subtypes of breast cancers. *Cancer Biol Ther*. 2010;10(10):955-960. http://www.landesbioscience.com/journals/cbt/article/13879/.

129. Rakha EA, Reis-Filho JS, Baehner F, et al. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast cancer Res BCR*. 2010;12(4):207. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2949637&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

130. Reis-Filho JS, Lakhani SR. Breast cancer special types: why bother? *J Pathol*. 2008;216(4):394-398.

131. Weigelt B, Reis-Filho JS. Histological and molecular types of breast cancer: is there a unifying taxonomy? *Nat Rev Clin Oncol*. 2009;6(12):718-730. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19942925.

132. Weigelt B, Geyer FC, Reis-Filho JS. Histological types of breast cancer: how special are they? *Mol Oncol*. 2010;4(3):192-208. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20452298.

133. Arpino G, Laucirica R, Elledge RM. Premalignant and in situ breast disease: biology and clinical implications. *Ann Intern Med*. 2005;143(6):446-457.

134. Polyak K. Breast cancer: origins and evolution. *J Clin Invest*. 2007;117(11):3155–3163. doi:10.1172/JCI33295.

135. Espina V, Liotta LA. What is the malignant nature of human ductal carcinoma in situ? *Nat Rev Cancer*. 2011;11(1):68-75. doi:10.1038/nrc2950.

136. Unit of Medical Technology and Intelligent Information Systems. Gastric Breast Cancer Network Cancer. doi:Online ISSN : 1109 - 7647.

137. Invasive Ductal Carcinoma Survival Rate. http://www.bonecancersurvivalrate.com/invasive-ductal-carcinoma-survival-rate.html. Published 2011.

138. Bánkfalvi A, Simon R, Brandt B, et al. Comparative methodological analysis of erbB-2/HER-2 gene dosage, chromosomal copy number and protein overexpression in breast carcinoma tissues for diagnostic use. *Histopathology*. 2000;37(5):411-419.

139. Biazús JV. Tipos de Cancro da Mama. http://www.jorgebiazus.com.br/tiposcancer.htm. Published 2005.

140. Matos I, Dufloth R, Alvarenga M, Zeferino LC, Schmitt F. p63, cytokeratin 5, and P-cadherin: three molecular markers to distinguish basal phenotype in breast carcinomas. *Virchows Arch an Int J Pathol*. 2005;447(4):688-694. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16012853.

141. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406(6797):747-752. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10963602.

142. Van't Veer LJ, Paik S, Hayes DF. Gene expression profiling of breast cancer: a new tumor marker. *J Clin Oncol*. 2005;23(8):1631-1635. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15755970.

143. Foulkes WD. Germline BRCA1 Mutations and a Basal Epithelial Phenotype in Breast Cancer. *CancerSpectrum Knowl Environ*. 2003;95(19):1482-1485. doi:10.1093/jnci/djg050.

144. Simon R, Mirlacher M, Sauter G. Tissue microarrays in cancer diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn*. 2003;3(4):421-430. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12877382.

145. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004;10(16):5367-5374. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15328174.

146. Bertucci F, Birnbaum D, Goncalves A. Proteomics of breast cancer: principles and potential clinical applications. *Mol Cell proteomics MCP*. 2006;5(10):1772-1786. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16733261.

147. Sørlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(14):8418-8423. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=166244&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

148. Toillon RA, Magné N, Laïos I, et al. Interaction between estrogen receptor alpha, ionizing radiation and (anti-) estrogens in breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat*. 2005;93(3):207-215.

149. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(19):10869-10874. doi:10.1073/pnas.191367098.

150. Sørlie T. Molecular portraits of breast cancer: tumour subtypes as distinct disease entities. *Eur J Cancer*. 2004;40(18):2667-2675. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15571950.

151. Sørlie T, Wang Y, Xiao C, et al. Distinct molecular mechanisms underlying clinically relevant subtypes of breast cancer: gene expression analyses across three different platforms. *BMC Genomics*. 2006;7(1471-2164 (Electronic) LA-eng PT-Journal Article RN-0 (Tumor Markers, Biological) SB-IM):127. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1489944&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

152. Tanner M, Gancberg D, Di Leo A, et al. Chromogenic in Situ Hybridization. *Am J Pathol*. 2000;157(5):1467-1472.

153. Zhang D-H, Salto-Tellez M, Chiu L-L, Shen L, Koay ES-C. Tissue microarray study for classification of breast tumors. *Life Sci*. 2003;73(25):3189-3199. http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320503007781.

154. Prat A, Perou CM. Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. *Mol Oncol*. 2011;5(1):5-23. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21147047.

155. Ricardo SAV, Milanezi F, Carvalho ST, Leitão DRA. HER2 evaluation using the novel rabbit monoclonal antibody SP3 and CISH in tissue microarrays of invasive breast carcinomas. *J Clin Pathol*. 2007;60(9):1001-1005.

156. Lakhani SR, O'Hare MJ. The mammary myoepithelial cell - Cinderella or ugly sister? *Breast Cancer Res*. 2001;3(1):1-4. http://discovery.ucl.ac.uk/26796/.

157. Calabrich A, Katz A. Câncer de mama triplo-negativo: aspectos clínicos, laboratoriais e terapêuticos. *Gene*. 2009:76-82.

158. Ahr A, Holtrich U, Solbach C, et al. Molecular classification of breast cancer patients by gene expression profiling. *J Pathol*. 2001;195(3):312-320.

159. Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *Oncologist*. 2004;9(6):606-616. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15561805. Accessed December 7, 2011.

160. Benson JR, Jatoi I, Keisch M, Esteva FJ, Makris A, Jordan VC. Early breast cancer. *Lancet*. 2009;373(9673):1463–1479. doi:10.1016/S0140-6736(09)60316-0.

161. Huang E, Cheng SH, Dressman H, et al. Gene expression predictors of breast cancer outcomes. *Lance*. 2003;361(9369):1590-1596. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12747878.

162. McGuire WL. Do we really need prognostic factors for breast cancer? *Breast Cancer Res Treat*. 1987;10(2):117-126.

163. Linn SC, Van T Veer LJ. Clinical relevance of the triple-negative breast cancer concept: genetic basis and clinical utility of the concept. *Eur J Cancer*. 2009;45 Suppl 1:11-26. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19775601.

164. Fisher B, Bauer M, Wickerham DL, et al. *Relation of Number of Positive Axillary Nodes to the Prognosis of Patients with Primary Breast Cancer. An NSABP Update.* Vol 52.; 1983. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6352003.

165. Nemoto T, Natarajan N, Bedwani R, Vana J, Murphy GP. Breast cancer in the medial half. Results of 1978 National Survey of the American College of Surgeons. *Cancer*. 1983;51(8):1333-1338.

166. Saez RA, McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors in breast cancer. *Semin Surg Oncol*. 1989;3(2):102-110.

167. Filho GB. Capítulo da Mama. In: *Bogliolo Patologia*. 7ª Edição. Guanabara Koogan; 2006:1472.

168. Tan LK, Giri D, Panageas K, et al. Occult/micrometastases in axillary lymph nodes of breast cancer patients are significant: a retrospective study with long-term follow-up. In: *Proc Am Soc Clin Oncol 21: 2002 (Abstr 146)*. 2002 ASCO Annual Meeting; 2002.

169. CL C, C A, DE H, Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer*. 1989;63(1):181-187. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2910416.

170. PP R, S G, DW K, et al. Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma: analysis of 767 T1N0M0/T2N0M0 patients with long-term follow-up. *J Clin Oncol*. 1993;11(11):2090-2100. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8229123.

171. Koscielny S, Tubiana M, Lê MG, et al. Breast cancer: relationship between the size of the primary tumour and the probability of metastatic dissemination. *Br J Cancer*. 1984;49(6):709-715.

172. Fisher B, Slack NH, Bross ID, et al. Cancer of the breast: size of neoplasm and prognosis. *Cancer*. 1969;24(5):1071-1080.

173. Fisiopatologia humana – Neoplasia: nota introdutória. *Sarcoma*.

174. Carstens PH, Greenberg RA, Francis D, Lyon H. Tubular carcinoma of the breast. A long term follow-up. *Histopathology*. 1985;9(3):271-280.

175. Clayton F. Pure mucinous carcinomas of breast: morphologic features and prognostic correlates. *Hum Pathol*. 1986;17(1):34-38.

176. Ridolfi RL, Rosen PP, Port A, Kinne D, Miké V. Medullary carcinoma of the breast: a clinicopathologic study with 10 year follow-up. *Cancer*. 1976;40(6):1365-1385. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/907958.

177. Bloom HJ, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer*. 1957;11:359-377. http://www.ncbi.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=retrieve&db=pubmed&dopt=abstract&list_uids=13499785.

178. Le Doussal V, Tubiana-Hulin M, Friedman S, Hacene K, Spyratos F, Brunet M. Prognostic value of histologic grade nuclear components of Scarff-Bloom-Richardson (SBR). An improved score modification based on a multivariate analysis of 1262 invasive ductal breast carcinomas. *Cancer*. 1989;64(9):1914-1921. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2551477.

179. Rosen PP, Groshen S, Saigo PE, Kinne DW, Hellman S. Pathological prognostic factors in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma: a study of 644 patients with median follow-up of 18 years. *J Clin Oncol*. 1989;7(9):1239-1251.

180. Neville AM, Bettelheim R, Gelber RD, et al. *Factors Predicting Treatment Responsiveness and Prognosis in Node-Negative Breast Cancer. The International (Ludwig) Breast Cancer Study Group.* Vol 10.; 1992.

181. Dunn M, Morgan MB, Beer TW. Perineural invasion: identification, significance, and a standardized definition. *Dermatol Surg*. 2009;35(2):214-221. doi:10.1111/j.1524-4725.2008.34412.x.

182. Barnes L, Eveson J, Reichart P, Sidransky D. *WHO Classification of Head and Neck Tumours*. Vol 92. IARC Press IARC Press IARC Press; 2004. http://www.who.int/bookorders. Accessed January 4, 2018.

183. MACHADO CRS. Tecido nervoso. In: *Neuroanatomia Funcional*. 2nd ed. Atheneu; 2000:17-33.

184. JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO J. Tecido nervoso. In: *Histologia Básica*. 11th ed. Guanabara Koogan; 2008:153-181.

185. Binmadi NO, Basile JR. Perineural invasion in oral squamous cell carcinoma: A discussion of significance and review of the literature. *Oral Oncol*. 2011;47:1005-1010. doi:10.1016/j.oraloncology.2011.08.002.

186. Park D, Kåresen R, Noren T, Sauer T. Ki-67 expression in primary breast carcinomas and their axillary lymph node metastases: clinical implications. *Virchows Arch an Int J Pathol*. 2007;451(1):11-18.

187. Giancotti V. Breast cancer markers. *Cancer Lett*. 2006;243(2):145-159. doi:10.1016/j.canlet.2006.01.035.

188. Brown RW, Allred CD, Clark GM, Osborne CK, Hilsenbeck SG. Prognostic value of Ki-67 compared to S-phase fraction in axillary node-negative breast cancer. *Clin Cancer Res*. 1996;2(3):585-592. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9816207.

189. Thor AD, Liu S, Moore DH, Edgerton SM. Comparison of mitotic index, in vitro bromodeoxyuridine labeling, and MIB-1 assays to quantitate proliferation in breast cancer. *J Clin Oncol*. 1999;17(2):470-477. http://jco.ascopubs.org/content/17/2/470.full.

190. Amadori D, Silvestrini R. Prognostic and predictive value of thymidine labelling index in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1998;51(3):267-281.

191. Wenger CR, Clark GM. S-phase fraction and breast cancer--a decade of experience. *Breast Cancer Res Treat*. 1998;51(3):255-265.

192. Bryant J, Fisher B, Gündüz N, Costantino JP, Emir B. S-phase fraction combined with other patient and tumor characteristics for the prognosis of node-negative, estrogen-receptor-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1998;51(3):239-253.

193. Daly MB, Clark GM, McGuire WL. Breast cancer prognosis in a mixed Caucasian-Hispanic population. *J Natl Cancer Inst*. 1985;74(4):753-757.

194. Gorin SS, Heck JE, Cheng B, Smith SJ. Delays in breast cancer diagnosis and treatment by racial/ethnic group. *Arch Intern Med*. 2006;166(20):2244-2252. http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=17101943.

195. Elledge RM, Clark GM, Chamness GC, Osborne CK. Re: Tumor biologic factors and breast cancer prognosis among white, Hispanic, and black women in the United States. *J Natl Cancer Inst*. 1994;86(17):705-712. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7908990.

196. Albain KS, Allred DC, Clark GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? *J Natl Cancer Inst Monogr*. 1994;(16):35-42.

197. Fisher B, Redmond C, Fisher ER, Caplan R. Relative worth of estrogen or progesterone receptor and pathologic characteristics of differentiation as indicators of prognosis in node negative breast cancer patients: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-06. *J Clin Oncol*. 1988;6(7):1076-1087. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2856862.

198. Kennedy RD, Quinn JE, Mullan PB, Harkin DP. The biology of breast carcinoma. *Cancer*. 2003;98(6):1327-1328-1329. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12548582.

199. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 2002;41(3A):151-152, NaN-153. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12405947.

200. Hilsenbeck SG, Ravdin PM, De Moor CA, Chamness GC, Osborne CK, Clark GM. Time-dependence of hazard ratios for prognostic factors in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1998;52(1-3):227-237. http://www.springerlink.com/index/J18208X877527316.pdf.

201. Group EBCTC. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lance*. 1998;351(9114):1451-1467. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9605801.

202. Schechter AL, Stern DF, Vaidyanathan L, et al. The neu oncogene: an erb-B-related gene encoding a 185,000-Mr tumour antigen. *Nature*. 1984;312(5994):513-516.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6095109.

203. Borg A, Tandon AK, Sigurdsson H, et al. HER-2/neu amplification predicts poor survival in node-positive breast cancer. *Cancer Res*. 1990;50(14):4332-4337.

204. Winstanley J, Cooke T, Murray GD, et al. The long term prognostic significance of c-erbB-2 in primary breast cancer. *Br J Cancer*. 1991;63(3):447-450.

205. Paterson MC, Dietrich KD, Danyluk J, et al. Correlation between c-erbB-2 amplification and risk of recurrent disease in node-negative breast cancer. *Cancer Res*. 1991;51(2):556-567. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1670762.

206. Bange J, Zwick E, Ullrich A. Molecular targets for breast cancer therapy and prevention. *Nat Med*. 2001;7(5):548-552. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11329054.

207. Van De Vijver MJ, He YD, Van't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med*. 2002;347(25):1999-2009. doi:10.1056/NEJMoa021967.

208. Breast Cancer Staging Resource. http://thinkcancer.com/breast-cancer-stages-and-picture/205.html.

209. McGee SF, Lanigan F, Gilligan E, Groner B. Mammary gland biology and breast cancer. Conference on Common Molecular Mechanisms of Mammary Gland Development and Breast Cancer Progression. *EMBO Rep*. 2006;7(11):1084-1088. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1679780&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

210. Mammaprint Gene Expression Profile. www.diagenomi.eu. Published 2009.

211. Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the "seed and soil" hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(6):453-458. doi:10.1038/nrc1098.

212. Folkman J. How is blood vessel growth regulated in normal and neoplastic tissue? G.H.A. Clowes memorial Award lecture. *Cancer Res*. 1986;46(2):467-473.

213. LA. L. Tumor invasion and metastases--role of the extracellular matrix: Rhoads Memorial Award lecture. *Cancer Res*. 1986;46(1):1-7.

214. Fisher ER, Fisher B. Recent observations on concepts of metastasis. *Arch Pathol*. 1967;83(4):321-324.

215. Fisher B, Fisher ER. The interrelationship of hematogenous and lymphatic tumor cell dissemination. *Surg Gynecol Obs*. 1966;122(4):791-798.

216. Nicolson Garth L. Cancer metastasis: tumour cell and host organ properties important in metastasis to specific secondary sites. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer*. 1988;948(2):175-224. http://dx.doi.org/10.1016/0304-419X(88)90010-8.

217. POSTE GEORGE, FIDLER IJ. The pathogenesis of cancer metastasis. *Nature*. 1980;283:139-146.

218. Fidler Isaiah J. The organ microenvironment and cancer metastasis. *Differentiation*. 2002;70:498-505.

219. Smith LF. Palpable cancer of the breast and negative mammography: the ongoing dilemma. *J Surg Oncol*. 2007;96(6):451-452.

220. Zonderland HM, Coerkamp EG, Hermans J, Van De Vijver MJ, Van Voorthuisen AE. *Diagnosis of Breast Cancer: Contribution of US as an Adjunct to Mammography.* Vol 213.; 1999.

221. Lucena CÊM de. "ÍNDICE DE AVALIAÇÃO ECOGRÁFICA" NO ESTUDO DOS NÓDULOS SÓLIDOS MAMÁRIOS – UMA NOVA PROPOSTA DE CLASSIFICAÇÃO. *Medicina (B Aires)*. 2006.

222. Britton PD, Mccann J. Needle biopsy in the NHS Breast Screening Programme how accurate? 1996/97: how much and. *The Breast*. 1999;(8):5-11.

223. Liston J, Wilson R, Thomas KG, Hopkins C, Sellars S, Thompson W. *Clinical Guidelines for Breast Cancer Screening Assessment*. Third Edit. Sheffield: NHSBSP Publication No 49; 2010. www.cancerscreening.nhs.uk.

224. Stanley MW, Sidawy MK, Sanchez MA, Stahl RE, Goldfischer M. Current issues in breast cytopathology. *Am J Clin Pathol*. 2000;113(5 Suppl 1):S49-S75.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11993710.

225. DeMartini W, Lehman C, Partridge S. Breast MRI for cancer detection and characterization: a review of evidence-based clinical applications. *Acad Radiol*. 2008;15(4):408-416. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18342764.

226. Mameri CS, Kemp C, Goldman SM, Sobral L a, Ajzen S. Impact of breast MRI on surgical treatment, axillary approach, and systemic therapy for breast cancer. *Breast J*. 14(3):236-244. doi:10.1111/j.1524-4741.2008.00568.x.

227. Morrow M, Freedman G. A clinical oncology perspective on the use of breast MR. *Magn Reson Imaging Clin N Am*. 2006;14(3):363-378, vi. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17098177.

228. Solin LJ, Orel SG, Hwang W-T, Harris EE, Schnall MD. Relationship of breast magnetic resonance imaging to outcome after breast-conservation treatment with radiation for women with early-stage invasive breast carcinoma or ductal carcinoma in situ. *J Clin Oncol*. 2008;26(3):386-391. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18202414.

229. Morrow M. Magnetic resonance imaging in the breast cancer patient: curb your enthusiasm. *J Clin Oncol*. 2008;26(3):352-353. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18202408.

230. Saslow D, Boetes C, Burke W, et al. American Cancer Society guidelines for breast screening with MRI as an adjunct to mammography. *CA a cancer J Clin*. 2007;57(2):75-89. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17392385.

231. Kapoor V, McCook BM, Torok FS. An introduction to PET-CT imaging. *Radiogr a Rev Publ Radiol Soc North Am Inc*. 2004;24(2):523-543. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15026598.

232. Duch J, Fuster D, Muñoz M, et al. 18F-FDG PET/CT for early prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009;36(10):1551-1557. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19326117.

233. Basely M, Bernard P, Gisserot O, Maszelin P, Bussy E, De Jaureguiberry J-P. *Umbilical Metastasis from Breast Cancer Detected by FDG PET.* Clinical Nuclear Medicine 34, 292-293 (2009).

234. Zhu A, Lee D, Shim H. Metabolic positron emission tomography imaging in cancer detection and therapy response. *Semin Oncol*. 2011;38(1):55-69. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3075495&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

235. Aukema TS, Straver ME, Valdés Olmos RA, Vogel W V. A different role for FDG PET/CT in axillary lymph node staging in breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009;36(11):1896-1897-1899.

236. Peare R, Staff RT, Heys SD. The use of FDG-PET in assessing axillary lymph node status in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of the literature. *Breast Cancer Res Treat*. 2010;123(1):281-290. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20140703.

237. Schuster DM, Halkar RK. Molecular imaging in breast cancer. *Radiol Clin North Am*. 2004;42(5):885-908, vi-vii. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15337423.

238. Belohlavek O. What is the role of FDG-PET in the initial staging of breast cancer? *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008;35(3):472-474. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18064456.

239. Cermik TF, Mavi A, Basu S, Alavi A. Impact of FDG PET on the preoperative staging of newly diagnosed breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008;35(3):475-483. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17957366.

240. Brix G, Henze M, Knopp M V, et al. Comparison of pharmacokinetic MRI and [18F] fluorodeoxyglucose PET in the diagnosis of breast cancer: initial experience. *Eur Radiol*. 2001;11(10):2058-2070. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11702142.

241. Goerres GW, Michel SCA, Fehr MK, et al. Follow-up of women with breast cancer: comparison between MRI and FDG PET. *Eur Radiol*. 2003;13(7):1635-1644.

242. Park JS, Moon WK, Lyou CY, Cho N, Kang KW, Chung J-K. The assessment of breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy: comparison of magnetic resonance imaging and 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Acta radiol*. 2011;52(1):21-28.

243. Zimny M, Siggelkow W. Positron emission tomography scanning in gynecologic and breast cancers. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2003;15(1):69-75. http://journals.lww.com/co-obgyn/Abstract/2003/02000/Positron_emission_tomography_scanning_in.11.aspx.

244. Noh DY, Yun IJ, Kang HS, et al. Detection of cancer in augmented breasts by positron emission tomography. *Eur J Surg Acta Chir*. 1999;165(9):847-851.

245. Wahl RL, Helvie MA, Chang AE, Andersson I. *Detection of Breast Cancer in Women after Augmentation Mammoplasty Using Fluorine-18-Fluorodeoxyglucose-PET.* Journal of nuclear medicine official publication Society of Nuclear Medicine 35, 872-875 (1994).

246. Czernin J. FDG-PET in Breast Cancer: A Different View of its Clinical Usefulness. *Mol imaging Biol MIB*. 2002;4(1):35-45. doi:10.1016/S1095-0397(01)00069-3.

247. Crippa F, Gerali A, Alessi A, Agresti R, Bombardieri E. FDG-PET for axillary lymph node staging in primary breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2004;31 Suppl 1:S97-S102. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15133635.

248. Straver ME, Aukema TS, Olmos RAV, et al. Feasibility of FDG PET/CT to monitor the response of axillary lymph node metastases to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2010;37(6):1069-1076. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2869017&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

249. Danforth DN, Aloj L, Carrasquillo JA, et al. The role of 18F-FDG-PET in the local/regional evaluation of women with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2002;75(2):135-146. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12243506.

250. Dose J, Bleckmann C, Bachmann S, et al. Comparison of fluorodeoxyglucose positron emission tomography and "conventional diagnostic procedures" for the detection of distant metastases in breast cancer patients. *Nucl Med Commun*. 2002;23(9):857-864. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12195090.

251. Kumar A, Kumar R, Seenu V, et al. *The Role of 18F-FDG PET/CT in Evaluation of Early Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Patients with Locally Advanced Breast Cancer.* Vol 19.; 2009.

252. Della Rovere GQ, Benson JR. Ipsilateral local recurrence of breast cancer: determinant or indicator of poor prognosis? *Lancet Oncol*. 2002;3(3):183-187.

253. Fisher B, Anderson S, Bryant J, et al. Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med*. 2002;347(16):1233-1241. doi:10.1056/NEJMoa022152.

254. Barros A, Barbosa E, Gebrim C. Diagnóstico e Tratamento do Câncer de Mama Projeto Diretrizes. *Assoc Médica Bras*. 2001:1-15.

255. Locker GY, Sainsbury JR, Cuzick J. Breast surgery in the "Arimidex, Tamoxifen Alone or in Combination" (ATAC) trial - American women are more likely than women from the United Kingdom to undergo mastectomy. *Cancer*. 2004;101(4):735-740. http://discovery.ucl.ac.uk/36505/.

256. IBRT. Breast Cancer Model. IBTR! Version 2.0. http://www.nemc.org/ibtr.

257. Portal São Francisco. Cirurgia do Câncer de Mama. http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/cancer-de-mama/cirurgia-do-cancer-de-mama-2.php.

258. A.D.A.M. Images. ADAM Images. http://www.adamimages.com/Home. Published 2010.

259. Rivadeneira DE, Simmons RM, Fish SK, et al. Skin-sparing mastectomy with immediate breast reconstruction: a critical analysis of local recurrence. *Cancer J Sudbury Mass*. 2000;6(5):331-335. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11079173.

260. Overgaard M, Hansen PS, Overgaard J, et al. POSTOPERATIVE RADIOTHERAPY IN HIGH-RISK PREMENOPAUSAL WOMEN WITH BREAST CANCER WHO RECEIVE ADJUVANT CHEMOTHERAPY. *N Engl J Med*. 1997;337(14):949-955. http://content.nejm.org/cgi/content/abstract/337/14/949.

261. Clarke M, Collins R, Darby S, et al. Effects of radiotherapy and of differences in the extent of

surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lance*. 2005;366(9503):2087-2106. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16360786.

262. Ravdin PM, Siminoff LA, Davis GJ, et al. Computer program to assist in making decisions about adjuvant therapy for women with early breast cancer. *J Clin Oncol*. 2001;19(4):980-991. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11181660.

263. Lyman GH, Giuliano AE, Somerfield MR, et al. American Society of Clinical Oncology guideline recommendations for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23(30):7703-7720. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16157938.

264. Goss PE, Ingle JN, Martino S, et al. *Randomized Trial of Letrozole Following Tamoxifen as Extended Adjuvant Therapy in Receptor-Positive Breast Cancer: Updated Findings from NCIC CTG MA.17.* Vol 97.; 2005. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16145047.

265. Clarke M, Coates AS, Darby SC, et al. Adjuvant chemotherapy in oestrogen-receptor-poor breast cancer: patient-level meta-analysis of randomised trials. *Lance*. 2008;371(9606):29-40. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18177773.

266. Carlson RW, Brown E, Burstein HJ, et al. NCCN Task Force Report: Adjuvant Therapy for Breast Cancer. *J Natl Compr Cancer Netw JNCCN*. 2006;4 Suppl 1:S1-S26.

267. Paik S, Shak S, Tang G, et al. *A Multigene Assay to Predict Recurrence of Tamoxifen-Treated, Node-Negative Breast Cancer.* Vol 351.; 2004. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15591335.

268. Henderson IC, Berry DA, Demetri GD, et al. *Improved Outcomes from Adding Sequential Paclitaxel but Not from Escalating Doxorubicin Dose in an Adjuvant Chemotherapy Regimen for Patients with Node-Positive Primary Breast Cancer.* Vol 21.; 2003. http://www.jco.org/cgi/doi/10.1200/JCO.2003.02.063.

269. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science (80-).* 1987;235(4785):177-182. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3798106.

270. Wolff AC, Hammond MEH, Schwartz JN, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25(1):118-145. http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2006.09.2775.

271. Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al. *Trastuzumab plus Adjuvant Chemotherapy for Operable HER2-Positive Breast Cancer.* Vol 353. Massachusetts Medical Society; 2005. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16236738.

272. Smith I, Procter M, Gelber RD, et al. 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomised controlled trial. *Lance*. 2007;369(9555):29-36. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17208639.

273. Perez EA, Suman VJ, Davidson NE, et al. *Cardiac Safety Analysis of Doxorubicin and Cyclophosphamide Followed by Paclitaxel with or without Trastuzumab in the North Central Cancer Treatment Group N9831 Adjuvant Breast Cancer Trial.* Vol 26.; 2008. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18250349.

274. Hortobagyi GN, Ames FC, Buzdar AU, et al. Management of stage III primary breast cancer with primary chemotherapy, surgery, and radiation therapy. *Cancer*. 1988;62(12):2507-2516. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3056604.

275. Wolff AC, Davidson NE. Primary systemic therapy in operable breast cancer. *J Clin Oncol*. 2000;18(7):1558-1569. http://jco.ascopubs.org/content/18/7/1558.abstract.

276. Fisher B, Brown A, Mamounas E, et al. *Effect of Preoperative Chemotherapy on Local-Regional Disease in Women with Operable Breast Cancer: Findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18.* Vol 15.; 1997. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9215816.

277. Wolmark N, Wang J, Mamounas E, Bryant J, Fisher B. *Preoperative Chemotherapy in Patients with Operable Breast Cancer: Nine-Year Results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18.* Vol 15212.; 2001. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11773300.

278. Nelson DL, Cox MM, Lehninger AL. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Vol 4th editio. 5th ed. (Nelson DL, Cox MM, eds.). W. H. Freeman; 2008. doi:10.1016/j.jse.2011.03.016.

279. Ferreira LMR. Cancer metabolism: the Warburg effect today. *Exp Mol Pathol*. 2010;89(3):372-380. doi:10.1016/j.yexmp.2010.08.006.

280. Gatenby R a, Gillies RJ. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat Rev Cancer*. 2004;4(11):891-899. doi:10.1038/nrc1478.

281. Secretaria da Educação. Portal Educacional do Estado do Paraná. http://www.diaadia.pr.gov.br/tvpendrive/arquivos/File/imagens/2010/biologia/respiaerobica.jpg.

282. Warburg O, Wind F, Negelein E. THE METABOLISM OF TUMORS IN THE BODY. *J Gen Physiol*. 1927;8(6):519-530. http://jgp.rupress.org/content/8/6/519.full.pdf. Accessed January 24, 2012.

283. Warburg O, others. On the Origin of Cancer Cells. *Science (80-)*. 1956;123(3191):309–314. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13298683. Accessed December 29, 2011.

284. Cori C, Cori G. Glycogen formation in the liver with d- and l-lactic acid. *J Biol Chem*. 1929;81(389-403).

285. Cori CF, Cori GT. The carbohydrate metabolism of tumors. II. Changes in the sugar, lactic acid and co-combining power of blood passing through a tumor. *J Biol Chem*. 1925;65(2):397-405. http://www.jbc.org/content/65/2/397.short.

286. Cori CF, Cori GT. The carbohydrate metabolism of tumors: I. The free sugar, lactic acid, and glycogen content of malignant tumors. *J Biol Chem*. 1925;64(2):11-22. http://www.jbc.org/content/65/2/397.short.

287. Semenza GL, Artemov D, Bedi A, et al. "The metabolism of tumours": 70 years later. *Novartis Found Symp*. 2001;240:251-260-264. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11727934.

288. Gambhir SS. Molecular imaging of cancer with positron emission tomography. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(9):683-693. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12209157.

289. Hawkins RA, Phelps ME. PET in clinical oncology. *CANCER METASTASIS Rev*. 1988;7(2):119-142. doi:10.1007/BF00046482.

290. Weber WA, Avril N, Schwaiger M. Relevance of positron emission tomography (PET) in oncology. *Strahlentherapie und Onkol Organ der Dtsch Rontgengesellschaft al*. 1999;175(8):356-373. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10481766.

291. Hawkins RA, Hoh CK. PET FDG studies in oncology. *Nucl Med Biol*. 1994;21(5):739-747.

292. Mankoff DA, Eary JF, Link JM, et al. Tumor-specific positron emission tomography imaging in patients: [18F] fluorodeoxyglucose and beyond. *Clin Cancer Res*. 2007;13(12):3460-3469. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17575208.

293. Phelps ME. Positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(16):9226-9233. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=16850&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

294. Mueckler M. Facilitative Glucose Transporter. *Eur J Biochem*. 1994;219(3):713-725. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8112322.

295. Mobasheri A, Bondy CA, Moley K, et al. *Facilitative Glucose Transporters in Articular Chondrocytes*. Berlin: Springer-Verlag; 2008.

296. Garrett R, Grisham CM. *Biochemistry*. Saunders College Publishing; 1995.

297. Eigenbrodt E, Mazurek S. Metabolic Database. Tumor Metabolome. http://www.metabolic-database.com/index.html. Published 2011.

298. Quintas A, Ponces Freire A, J Halpern M, Freire AP, Halpern MJ. *Bioquímica - Organização Molecular Da Vida*. (Quintas A, Freire AP, Halpern MJ, eds.). Lidel; 2008.

299. Dang C V, Semenza GL. Oncogenic alterations of metabolism. *Trends Biochem Sci* . 1999;24(2):68-72. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10098401.

300. Pedersen PL. Tumor mitochondria and the bioenergetics of cancer cells. *Prog Exp Tumor Res Fortschritte Der Exp Tumorforsch Prog La Rech Exp Des Tumeurs*. 1978;22:190-274. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/149996.

301. Medina RA, Owen GI. Glucose transporters: expression, regulation and cancer. *Biol Res*.

2002;35(1):9-26. doi:10.4067/S0716-97602002000100004.

302. Stubbs M, Griffiths JR. The altered metabolism of tumors: HIF-1 and its role in the Warburg effect. *Adv Enzyme Regul*. 2010;50(1):44-55. doi:10.1016/j.advenzreg.2009.10.027.

303. Feron O. Pyruvate into lactate and back: from the Warburg effect to symbiotic energy fuel exchange in cancer cells. *Radiother Oncol*. 2009;92(3):329-333. doi:10.1016/j.radonc.2009.06.025.

304. Locasale JW, Cantley LC. Altered metabolism in cancer. *BMC Biol*. 2010;8:88. doi:10.1186/1741-7007-8-88.

305. Newsholme EA, Board M. Application of metabolic-control logic to fuel utilization and its significance in tumor cells. *Adv Enzyme Regul*. 1991;31:225-246.

306. Shaw RJ. Glucose metabolism and cancer. *Curr Opin Cell Biol*. 2006;18(6):598-608. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17046224.

307. Shim H, Dolde C, Lewis BC, et al. c-Myc transactivation of LDH-A: Implications for tumor metabolism and growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(13):6658-6663. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=21214&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

308. Hennipman A, Smits J, Van Oirschot B, et al. Glycolytic enzymes in breast cancer, benign breast disease and normal breast tissue. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med*. 1987;8(5):251-263. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3448771.

309. Board M, Humm S, Newsholme EA. Maximum activities of key enzymes of glycolysis, glutaminolysis, pentose phosphate pathway and tricarboxylic acid cycle in normal, neoplastic and suppressed cells. *Biochem J*. 1990;265(2):503-509. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1136912&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

310. Mazurek S, Grimm H, Boschek CB, Vaupel P, Eigenbrodt E. Pyruvate kinase type M2: a crossroad in the tumor metabolome. *Br J Nutr*. 2002;87 Suppl 1(S1):S23-S29. http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0007114502000193.

311. Mazurek S, Eigenbrodt E. The tumor metabolome. *Anticancer Res*. 2003;23(2A):1149-1154. http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=14849397.

312. Hennipman A, Van Oirschot BA, Smits J, Rijksen G, Staal GE. Glycolytic enzyme activities in breast cancer metastases. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med*. 1988;9(5):241-248.

313. Demetrius LA, Coy JF, Tuszynski JA. Cancer proliferation and therapy: the Warburg effect and quantum metabolism. *Theor Biol Med Model*. 2010;7(2):2. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2819045&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

314. LehningerA L, NelsonD L, CoxM M. Bioenergetics and metabolism. *Princ Biochem*. 1982:467-510.

315. Buerkle A, Weber WA. Imaging of tumor glucose utilization with positron emission tomography. *Cancer Metastasis Rev*. 2008;27(4):545-554. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18523732.

316. Di Chiro G, DeLaPaz RL, Brooks RA, et al. Glucose utilization of cerebral gliomas measured by [18F] fluorodeoxyglucose and positron emission tomography. *Neurology*. 1982;32(12):1323-1329. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6983044.

317. Oshida M, Uno K, Suzuki M, et al. Predicting the prognoses of breast carcinoma patients with positron emission tomography using 2-deoxy-2-fluoro[18F]-D-glucose. *Cancer*. 1998;82(11):2227-2234. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9610703.

318. Nieweg OE, Kim EE, Wong WH, et al. Positron emission tomography with fluorine-18-deoxyglucose in the detection and staging of breast cancer. *Cancer*. 1993;71(12):3920-3925.

319. MacManus MP, Hicks RJ, Ball DL, et al. Imaging with F-18 FDG PET is superior to Tl-201 SPECT in the staging of non-small cell lung cancer for radical radiation therapy. *Australas Radiol*. 2001;45(4):483-490.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11903182.

320. Hannah A, Scott AM, Tochon-Danguy H, et al. Evaluation of 18F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography and Computed Tomography With Histopathologic Correlation in the Initial Staging of Head and Neck Cancer. *Ann Surg*. 2002;236(2):208-217. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1422567&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

321. Byrne AM, Hill ADK, Skehan SJ, McDermott EW, O'Higgins NJ. Positron emission tomography in the staging and management of breast cancer. *Br J Surg*. 2004;91(11):1398-1409. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15499650.

322. Morello N. Take Back the Plate. http://takebacktheplate.files.wordpress.com/2010/10/glucose.jpg. Published 2005.

323. Biomedical Research Foundation's PET Imaging Center. PET Imaging Clinic. http://www.biomedpet.org/images/fdg.gif. Published 2005.

324. IPEN. *Bula FDG IPEN*. São Paulo; 2010.

325. Buck, Andreas K.; Neske SN. Cellular Origin and Molecular Mechanisms of 18F-FDG Uptake: Is There a Contribution of the Endothelium? *J Nucl Med*. 2004;45(3):461-463.

326. Pauwels EKJ. 18F-labeled fluorodeoxyglucose for PET imaging: The working mechanism and its clinical implication. *Drugs Future*. 2001;26(7):659-668. doi:10.1358/dof.2001.026.07.858710.

327. PET Scan Online. http://www.petscanonline.com/. Published 2001.

328. Levine AJ, Feng Z, Mak TW, You H, Jin S. Coordination and communication between the p53 and IGF-1-AKT-TOR signal transduction pathways. *Genes Dev*. 2006;20(3):267-275. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16452501.

329. Smith TAD, Sharma RI, Thompson AM, Paulin FEM. Tumor 18F-FDG incorporation is enhanced by attenuation of P53 function in breast cancer cells in vitro. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. 2006;47(9):1525-1530.

330. Riedl CC, Akhurst T, Larson S, et al. *18F-FDG PET Scanning Correlates with Tissue Markers of Poor Prognosis and Predicts Mortality for Patients after Liver Resection for Colorectal Metastases.* Vol 48.; 2007. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17475966.

331. Gottlieb E, Tomlinson IPM. Mitochondrial tumour suppressors: A genetic and biochemical update. *Nat Rev Cancer*. 2005;5(11):857-866. http://eprints.gla.ac.uk/23550/.

332. The Brooklyn Hospital Center. Current Applications of PET-CT: An Overview for the Referring Physician. *J Heal Sci*. 2009;1(1). http://www.tbh.org/journal/full_story.php?archived=1&vol=1&iss=1&story_id=27.

333. Huang SC. Anatomy of SUV. Standardized uptake value. *Nucl Med Biol*. 2000;27(7):643-646. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11091106.

334. Kern KA, Norton JA. Inhibition of established rat fibrosarcoma growth by the glucose antagonist 2-deoxy-D-glucose. *Surger*. 1987;102(2):380-385.

335. Torizuka T, Tamaki N, Inokuma T, et al. In vivo assessment of glucose metabolism in hepatocellular carcinoma with FDG-PET. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. 1995;36(10):1811-1817. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7562048.

336. Brown RS, Goodman TM, Zasadny KR, Greenson JK, Wahl RL. Expression of hexokinase II and Glut-1 in untreated human breast cancer. *Nucl Med Biol*. 2002;29(4):443-453. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12031879.

337. Chung JK, Lee YJ, Kim C, et al. Mechanisms related to [18F]fluorodeoxyglucose uptake of human colon cancers transplanted in nude mice. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. 1999;40(2):339-346.

338. Higashi T, Saga T, Nakamoto Y, et al. Relationship between retention index in dual-phase (18)F-FDG PET, and hexokinase-II and glucose transporter-1 expression in pancreatic cancer. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. 2002;43(2):173-180.

339. Macheda ML, Rogers S, Best JD. Molecular and cellular regulation of glucose transporter

(GLUT) proteins in cancer. *J Cell Physiol*. 2005;202(3):654-662. doi:10.1002/jcp.20166.

340. Zhao F-Q, Keating AF. Functional Properties and Genomics of Glucose Transporters. *Curr Genomics*. 2007;8(2):113-128. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2435356&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

341. Widdas WF. Old and new concepts of the membrane transport for glucose in cells. *Biochim Biophys Acta*. 1988;947:385-404.

342. Biology Department at College of the Siskiyous in Weed. Yellow Tang Moodle - Modular Object-Oriented Dynamic Learning Environment. http://www.yellowtang.org/images/proteins_embedded_w_c_la_784.jpg.

343. IJEM. International Genetically Engineered Machine competition (iGEM). http://2009.igem.org/wiki/images/thumb/8/84/V_VDCCs.gif/300px-V_VDCCs.gif. Published 2009.

344. James DE, Piper RC, Slot JW. Insulin stimulation of GLUT-4 translocation: a model for regulated recycling. *Trends Cell Biol*. 1994;4(4):120-126.

345. Stephens JM, Pilch PF. The metabolic regulation and vesicular transport of GLUT4, the major insulin-responsive glucose transporter. *Endocr Rev*. 1995;16(4):529-546.

346. Joost H-G, Bell GI, Best JD, et al. Nomenclature of the GLUT/SLC2A family of sugar/polyol transport facilitators. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 2002;282(4):E974-6. doi:10.1152/ajpendo.00407.2001.

347. Joost HG, Thorens B. The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members (review). *Mol Membr Biol*. 2001;18(4):247-256. http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1080/09687680110090456.

348. Lachaal M, Rampal AL, Lee W, Shi Y, Jung CY. GLUT1 transmembrane glucose pathway. Affinity labeling with a transportable D-glucose diazirine. *J Biol Chem*. 1996;271(9):5225-5230.

349. Zeng H, Parthasarathy R, Rampal AL, Jung CY. Proposed structure of putative glucose channel in GLUT1 facilitative glucose transporter. *Biophys J*. 1996;70(1):14-21. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1224905&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

350. Diabetes. http://diabetesunb.blogspot.com/2011_05_01_archive.html. Published 2011.

351. Takata K, Kasahara T, Kasahara M, Ezaki O, Hirano H. Erythrocyte/HepG2-type glucose transporter is concentrated in cells of blood-tissue barriers. *Biochem Biophys Res Commun*. 1990;173(1):67-73.

352. Zhao FQ, Glimm DR, Kennelly JJ. Distribution of mammalian facilitative glucose transporter messenger RNA in bovine tissues. *Int J Biochem*. 1993;25(12):1897-1903. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8138027.

353. Mueckler M. Facilitative glucose transporters. *Fed Eur Biochem Soc J*. 1994;219(3):713-725. doi:10.1111/j.1432-1033.1994.tb18550.x.

354. Maher F. Immunolocalization of GLUT1 and GLUT3 glucose transporters in primary cultured neurons and glia. *J Neurosci Res*. 1995;42(4):459-469. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8568932.

355. Carruthers A. Facilitated diffusion of glucose. *Physiol Rev*. 1990;70(4):1135-1176. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2217557.

356. Marette A, Richardson JM, Ramlal T, et al. Abundance, localization, and insulin-induced translocation of glucose transporters in red and white muscle. *Am J Physiol*. 1992;263(2 Pt 1):C443-C452. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1514590.

357. Brown RS, Wahl RL. Overexpression of Glut-1 glucose transporter in human breast cancer. An immunohistochemical study. *Cancer*. 1993;72(10):2979-2985. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8221565.

358. Alò PL, Visca P, Botti C, et al. Immunohistochemical expression of human erythrocyte glucose transporter and fatty acid synthase in infiltrating breast carcinomas and adjacent typical/atypical

hyperplastic or normal breast tissue. *Am J Clin Pathol*. 2001;116(1):129-134. doi:10.1309/5Y2L-CDCK-YB55-KDK6.

359. Binder C, Binder L, Marx D, Schauer A, Hiddemann W. Deregulated simultaneous expression of multiple glucose transporter isoforms in malignant cells and tissues. *Anticancer Res*. 1997;17(6D):4299-4304. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Entrez/query?db=m&form=6&dopt=r&uid=9494524.

360. Zimmerman RL, Goonewardene S, Fogt F. Glucose transporter Glut-1 is of limited value for detecting breast carcinoma in serous effusions. *Mod Pathol*. 2001;14(8):748-751. doi:10.1038/modpathol.3880384.

361. Carvalho KC, Cunha IW, Rocha RM, et al. GLUT1 expression in malignant tumors and its use as an immunodiagnostic marker. *Clin Sao Paulo Brazil*. 2011;66(6):965-972. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-59322011000600008&lng=en&nrm=iso&tlng=en.

362. Yang H-Y, Liu H-L, Ke J, et al. Expression and prognostic value of Id protein family in human breast carcinoma. *Oncol Rep*. 2010;23(2):321-328.

363. Dugani CB, Klip A. Glucose transporter 4: cycling, compartments and controversies. *EMBO Rep*. 2005;6(12):1137-1142. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1369215&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

364. Omata W, Shibata H, Li L, Takata K, Kojima I. Actin filaments play a critical role in insulin-induced exocytotic recruitment but not in endocytosis of GLUT4 in isolated rat adipocytes. *Biochem J*. 2000;346 Pt 2(Pt 2):321-328. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10677349.

365. Foley K, Boguslavsky S, Klip A. Endocytosis, Recycling and Regulated Exocytosis of Glucose Transporter 4 (GLUT4). *Biochemistry*. 2011;50(15):3048-3061. doi:10.1021/bi2000356.

366. Zeigerer A, McBrayer MK, McGraw TE. Insulin stimulation of GLUT4 exocytosis, but not its inhibition of endocytosis, is dependent on RabGAP AS160. S Bonifacino J, ed. *Mol Biol Cell*. 2004;15(10):4406-4415. http://www.molbiolcell.org.ezp-prod1.hul.harvard.edu/cgi/content/abstract/15/10/4406.

367. Li L V, Kandror K V. Golgi-localized, gamma-ear-containing, Arf-binding protein adaptors mediate insulin-responsive trafficking of glucose transporter 4 in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Endocrinol Balt Md*. 2005;19(8):2145-2153. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15774496.

368. Proctor KM, Miller SCM, Bryant NJ, Gould GW. Syntaxin 16 controls the intracellular sequestration of GLUT4 in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;347(2):433-438. http://eprints.gla.ac.uk/9433/.

369. Ramm G, Larance M, Guilhaus M, James DE. A role for 14-3-3 in insulin-stimulated GLUT4 translocation through its interaction with the RabGAP AS160. *J Biol Chem*. 2006;281(39):29174-29180. doi:10.1074/jbc.M603274200.

370. Rea S, James DE. Moving GLUT4: the biogenesis and trafficking of GLUT4 storage vesicles. *Diabetes*. 1997;46(11):1667-1677. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9356011.

371. Holman GD, Kasuga M. From receptor to transporter: insulin signalling to glucose transport. *Diabetologia*. 1997;40(9):991-1003. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9300235.

372. Zisman A, Peroni OD, Abel ED, et al. Targeted disruption of the glucose transporter 4 selectively in muscle causes insulin resistance and glucose intolerance. *Nat Med*. 2000;6(8):924-928. doi:10.1038/78693.

373. Kim JK, Zisman A, Fillmore JJ, et al. Glucose toxicity and the development of diabetes in mice with muscle-specific inactivation of GLUT4. *J Clin Invest*. 2001;108(1):153-160. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11435467.

374. Jhun BH, Rampal AL, Liu H, Lachaal M, Jung CY. Effects of insulin on steady state kinetics of GLUT4 subcellular distribution in rat adipocytes. Evidence of constitutive GLUT4 recycling. *J Biol Chem*. 1992;267(25):17710-17715. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1517217.

375. Ismail-Beigi F. Metabolic regulation of glucose transport. *J Membr Biol*. 1993;135(1):1-10.

376. Uldry M, Ibberson M, Hosokawa M, Thorens B. GLUT2 is a high affinity glucosamine transporter. *FEBS Lett*. 2002;524(1-3):199-203. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12135767.

377. Kasahara T, Kasahara M. Characterization of rat Glut4 glucose transporter expressed in the yeast Saccharomyces cerevisiae: comparison with Glut1 glucose transporter. *Biochim Biophys Acta*. 1997;1324(1):111-119. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9059504.

378. Koumanov F, Jin B, Yang J, Holman GD. Insulin signaling meets vesicle traffic of GLUT4 at a plasma-membrane-activated fusion step. *Cell Metab*. 2005;2(3):179-189. http://opus.bath.ac.uk/3807/.

379. Watson RT, Pessin JE. GLUT4 translocation: the last 200 nanometers. *Cell Signal*. 2007;19(11):1-9. doi:10.1016/j.cellsig.2007.06.003.

380. Thurmond DC, Pessin JE. Molecular machinery involved in the insulin-regulated fusion of GLUT4-containing vesicles with the plasma membrane (review). *Mol Membr Biol*. 2001;18(4):237-245. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11780752.

381. Birnbaum MJ. The insulin-sensitive glucose transporter. *Int Rev Cytol*. 1992;137:239-297.

382. James DE, Piper RC. Insulin resistance, diabetes, and the insulin-regulated trafficking of GLUT-4. *J Cell Biol*. 1994;126(5):1123-1126. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2120162/.

383. Cheatham B. GLUT4 and company: SNAREing roles in insulin-regulated glucose uptake. *Trends Endocrinol Metab TEM*. 2000;11(9):356-361. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11042465.

384. Lamb CA, McCann RK, Stöckli J, James DE, Bryant NJ. Insulin-Regulated Trafficking of GLUT4 Requires Ubiquitination. *Traffic Copenhagen Denmark*. 2010;11(11):1445-1454. http://eprints.gla.ac.uk/40212/.

385. Slot JW, Geuze HJ, Gigengack S, James DE, Lienhard GE. Translocation of the glucose transporter GLUT4 in cardiac myocytes of the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88(17):7815-7819. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=52394&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

386. Suzuki K, Kono T. Evidence that insulin causes translocation of glucose transport activity to the plasma membrane from an intracellular storage site. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1980;77(5):2542-2545. http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.77.5.2542.

387. Translocação de GLUT-4. http://3.bp.blogspot.com/-Cmno1h9eTrw/Tf9hujO8pXI/AAAAAAAAAD4/ooD5xuAaRfk/s1600/Exerc%2525C3%2525ADcio_glut4.jpg.

388. Burant CF, Takeda J, Brot-Laroche E, Bell GI, Davidson NO. Fructose transporter in human spermatozoa and small intestine is GLUT5. *J Biol Chem*. 1992;267(21):14523-14526. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1634504.

389. Miyamoto K, Tatsumi S, Morimoto A, et al. Characterization of the rabbit intestinal fructose transporter (GLUT5). *Biochem J*. 1994;303(Pt 3):877-883. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1137628&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

390. Davidson NO, Hausman AM, Ifkovits CA, et al. Human intestinal glucose transporter expression and localization of GLUT5. *Am J Physiol*. 1992;262(3 Pt 1):C795-C800. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1550217.

391. Blakemore SJ, Aledo JC, James J, Campbell FC, Lucocq JM, Hundal HS. The GLUT5 hexose transporter is also localized to the basolateral membrane of the human jejunum. *Biochem J*. 1995;310(Pt 1):7-12.

392. Mantych GJ, James DE, Devaskar SU. Jejunal/kidney glucose transporter isoform (Glut-5) is expressed in the human blood-brain barrier. *Endocrinology*. 1993;132(1):35-40. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8419132.

393. Kayano T, Burant CF, Fukumoto H, et al. Human facilitative glucose transporters. Isolation, functional characterization, and gene localization of cDNAs encoding an isoform (GLUT5)

expressed in small intestine, kidney, muscle, and adipose tissue and an unusual glucose transporter pseudogene-like. *J Biol Chem*. 1990;265(22):13276-13282. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1695905.

394. Chan KK, Chan JYW, Chung KKW, Fung K-P. Inhibition of cell proliferation in human breast tumor cells by antisense oligonucleotides against facilitative glucose transporter 5. *J Cell Biochem*. 2004;93(6):1134-1142. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15449313.

395. Rogers S, Docherty SE, Slavin JL, Henderson MA, Best JD. Differential expression of GLUT12 in breast cancer and normal breast tissue. *Cancer Lett*. 2003;193(2):225-233. doi:10.1016/S0304-3835(03)00010-7.

396. Zamora-León SP, Golde DW, Concha II, et al. Expression of the fructose transporter GLUT5 in human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(5):1847-1852. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=39870&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

397. Godoy A, Ulloa V, Rodríguez F, et al. Differential subcellular distribution of glucose transporters GLUT1-6 and GLUT9 in human cancer: ultrastructural localization of GLUT1 and GLUT5 in breast tumor tissues. *J Cell Physiol*. 2006;207(3):614-627. http://www3.interscience.wiley.com/journal/112474966/abstract.

398. Douard V, Ferraris RP. Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;295(2):E227-E237. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2652499&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

399. Rogers S, Macheda ML, Docherty SE, et al. Identification of a novel glucose transporter-like protein-GLUT-12. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 2002;282(3):E733-E738. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11832379.

400. Rogers S, Chandler JD, Clarke AL, Petrou S, Best JD. Glucose transporter GLUT12-functional characterization in Xenopus laevis oocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;308(3):422-426. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12914765.

401. Macheda ML, Kelly DJ, Best JD, Rogers S. Expression during rat fetal development of GLUT12--a member of the class III hexose transporter family. *Anat Embryol (Berl)*. 2002;205(5-6):441-452. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12382147.

402. Macheda ML, Williams ED, Best JD, Wlodek ME, Rogers S. Expression and localisation of GLUT1 and GLUT12 glucose transporters in the pregnant and lactating rat mammary gland. *Cell Tissue Res*. 2003;311(1):91-97.

403. Chandler JD, Williams ED, Slavin JL, Best JD, Rogers S. Expression and localization of GLUT1 and GLUT12 in prostate carcinoma. *Cancer*. 2003;97(8):2035-2042. doi:10.1002/cncr.11293.

404. Guyton AC, Hall EH. *Tratado de Fisiologia Médica - 12.ª Edição*. 12.ª. Saunders Elsevier; 2011.

405. Sakoda H, Ogihara T, Anai M, et al. Dexamethasone-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is due to inhibition of glucose transport rather than insulin signal transduction. *Diabetes*. 2000;49(10):1700-1708. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11016454.

406. Rincon J, Holmäng A, Wahlström EO, et al. Mechanisms behind insulin resistance in rat skeletal muscle after oophorectomy and additional testosterone treatment. *Diabetes*. 1996;45(5):615-621.

407. Matosin-Matekalo M, Mesonero JE, Laroche TJ, Lacasa M, Brot-Laroche E. Glucose and thyroid hormone co-regulate the expression of the intestinal fructose transporter GLUT5. *Biochem J*. 1999;339(Pt 2):233-239.

408. Kodaman PH, Behrman HR. Hormone-regulated and glucose-sensitive transport of dehydroascorbic acid in immature rat granulosa cells. *Endocrinology*. 1999;140(8):3659-3665.

409. Haney PM. Localization of the GLUT1 glucose transporter to brefeldin A-sensitive vesicles of differentiated CIT3 mouse mammary epithelial cells. *Cell Biol Int*. 2001;25(4):277-288.

410. Vannucci SJ, Maher F, Koehler E, Simpson IANA, J S, Simpson IA. Altered expression of

GLUT-1 and GLUT-3 glucose transporters in neurohypophysis of water-deprived or diabetic rats. *Am J Physiol*. 1994;267(4 Pt 1):E605-11. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7943311.

411. Rivenzon-Segal D, Rushkin E, Polak-Charcon S, Degani H. Glucose transporters and transport kinetics in retinoic acid-differentiated T47D human breast cancer cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2000;279(3):E508-19. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10950817.

412. Hart CD, Flozak AS, Simmons RA. Modulation of glucose transport in fetal rat lung: a sexual dimorphism. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1998;19(1):63-70.

413. Avril N, Menzel M, Dose J, et al. Glucose metabolism of breast cancer assessed by 18F-FDG PET: histologic and immunohistochemical tissue analysis. *J Nuc Med*. 2001;42(1):9. http://jnm.snmjournals.org/content/42/1/9.short. Accessed August 16, 2011.

414. Sasano H, Suzuki T, Nakata T, Moriya T. New development in intracrinology of breast carcinoma. *Breast cancer*. 2006;13(2):129-136. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16755106.

415. Hansen PA, Hollosszy J, Lee AD, Holloszy JO. Wortmannin inhibits insulin-stimulated but not contraction-stimulated glucose transport activity in skeletal muscle. *FEBS Lett*. 1995;361(1):51-54. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Entrez/query?db=m&form=6&dopt=r&uid=0007890039.

416. Wojtaszewski JF, Hansen BF, Ursø B, Richter EA. Wortmannin inhibits both insulin- and contraction-stimulated glucose uptake and transport in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 1996;81(4):1501-1509. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8904560.

417. Kanzaki M, Watson RT, Artemyev NO, Pessin JE. The trimeric GTP-binding protein (G(q)/G(11)) alpha subunit is required for insulin-stimulated GLUT4 translocation in 3T3L1 adipocytes. *J Biol Chem*. 2000;275(10):7167-7175.

418. Ciaraldi TP, Abrams L, Nikoulina S, Mudaliar S, Henry RR. Glucose transport in cultured human skeletal muscle cells. Regulation by insulin and glucose in nondiabetic and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *J Clin Invest*. 1995;96(6):2820-2827.

419. Garcia De Herreros A, Birnbaum MJ. The regulation by insulin of glucose transporter gene expression in 3T3 adipocytes. *J Biol Chem*. 1989;257(17):6978-6986. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17416968.

420. Altenberg B, Greulich KO. Genes of glycolysis are ubiquitously overexpressed in 24 cancer classes. *Genomics*. 2004;84(6):1014-1020. doi:10.1016/j.ygeno.2004.08.010.

421. Roche E, Assimacopoulos-Jeannet F, Witters L a, et al. Induction by glucose of genes coding for glycolytic enzymes in a pancreatic beta-cell line (INS-1). *J Biol Chem*. 1997;272(5):3091-3098. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9006960.

422. Shim H, Dolde C, Lewis BC, et al. c-Myc transactivation of LDH-A: Implications for tumor metabolism and growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(13):6658-6663. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=21214&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

423. Kim J, Dang C V. Cancer's molecular sweet tooth and the Warburg effect. *Cancer Res*. 2006;66(18):8927-8930. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16982728.

424. Chen C, Pore N, Behrooz A, Ismail-Beigi F, Maity A. Regulation of glut1 mRNA by hypoxia-inducible factor-1. Interaction between H-ras and hypoxia. *J Biol Chem*. 2001;276(12):9519-9525. doi:10.1074/jbc.M010144200.

425. Liu XH, Kirschenbaum A, Lu M, et al. Prostaglandin E2 induces hypoxia-inducible factor-1alpha stabilization and nuclear localization in a human prostate cancer cell line. *J Biol Chem*. 2002;277(51):50081-50086. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12401798.

426. Laughner E, Taghavi P, Chiles K, Mahon PC, Semenza GL. HER2 (neu) Signaling Increases the Rate of Hypoxia-Inducible Factor 1α (HIF-1α) Synthesis: Novel Mechanism for HIF-1-Mediated Vascular Endothelial Growth Factor Expression. *Mol Cell Biol*. 2001;21(12):3995-4004. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=87062&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

427. Fukuda R, Hirota K, Fan F, Jung Y Do, Ellis LM, Semenza GL. Insulin-like growth factor 1 induces hypoxia-inducible factor 1-mediated vascular endothelial growth factor expression, which is dependent on MAP kinase and phosphatidylinositol 3-kinase signaling in colon cancer cells. *J*

Biol Chem. 2002;277(41):38205-38211. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12149254.

428. Jiang BH, Agani F, Passaniti A, Semenza GL. V-SRC induces expression of hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) and transcription of genes encoding vascular endothelial growth factor and enolase 1: involvement of HIF-1 in tumor progression. *Cancer Res*. 1997;57(23):5328-5335. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9393757.

429. Zhong H, Chiles K, Feldser D, et al. Modulation of hypoxia-inducible factor 1alpha expression by the epidermal growth factor/phosphatidylinositol 3-kinase/PTEN/AKT/FRAP pathway in human prostate cancer cells: implications for tumor angiogenesis and therapeutics. *Cancer Res*. 2000;60(6):1541-1545. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10749120.

430. Zundel W, Schindler C, Haas-Kogan D, et al. Loss of PTEN facilitates HIF-1-mediated gene expression. *Genes Dev*. 2000;14(4):391-396. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=316386&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

431. Ravi R, Mookerjee B, Bhujwalla ZM, et al. Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha. *Genes Dev*. 2000;14(1):34-44. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10640274.

432. Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(10):721-732. doi:10.1038/nrc1187.

433. Van Schaftingen E, Jett MF, Hue L, Hers HG. Control of liver 6-phosphofructokinase by fructose 2,6-bisphosphate and other effectors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78(6):3483-3486.

434. Telang S, Yalcin A, Clem AL, et al. Ras transformation requires metabolic control by 6-phosphofructo-2-kinase. *Oncogene*. 2006;25(55):7225-7234. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16715124.

435. Blum R, Jacob-Hirsch J, Amariglio N, Rechavi G, Kloog Y. Ras inhibition in glioblastoma down-regulates hypoxia-inducible factor-1alpha, causing glycolysis shutdown and cell death. *Cancer Res*. 2005;65(3):999-1006. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15705901.

436. Helmlinger G, Yuan F, Dellian M, Jain RK. Interstitial pH and pO2 gradients in solid tumors in vivo: high-resolution measurements reveal a lack of correlation. *Nat Med*. 1997;3(2):177-182. http://www.nature.com/nm/journal/v3/n2/abs/nm0297-177.html.

437. Burt BM, Humm JL, Kooby DA, et al. Using Positron Emission Tomography with [18F]FDG to Predict Tumor Behavior in Experimental Colorectal Cancer1. *Neoplasia New York Ny*. 2001;3(3):189-195. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1505592&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

438. Clavo a C, Brown RS, Wahl RL. Fluorodeoxyglucose uptake in human cancer cell lines is increased by hypoxia. *J Nucl Med*. 1995;36(9):1625-1632. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7658223.

439. Pedersen MWB, Holm S, Lund EL, Højgaard L, Kristjansen PEG. Coregulation of Glucose Uptake and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in Two Small-Cell Lung Cancer (SCLC) Sublines In Vivo and In Vitro1. *Neoplasia New York Ny*. 2001;3(1):80-87. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1505028&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

440. Burgman P, Odonoghue J a, Humm JL, Ling CC. Hypoxia-Induced increase in FDG uptake in MCF7 cells. *J Nuc Med*. 2001;42(1):170-175. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11197971.

441. Golshani-Hebroni SG, Bessman SP. Hexokinase binding to mitochondria: a basis for proliferative energy metabolism. *J Bioenerg Biomembr*. 1997;29(4):331-338. http://www.springerlink.com/index/VM27513Q0J628153.pdf.

442. Rempel A, Bannasch P, Mayer D. Differences in expression and intracellular distribution of hexokinase isoenzymes in rat liver cells of different transformation stages. *Biochim Biophys Acta*. 1994;1219(3):660-668. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7948023.

443. Rempel A, Mathupala SP, Perdersen PL. Glucose catabolism in cancer cells: regulation of the Type II hexokinase promoter by glucose and cyclic AMP. *FEBS Lett*. 1996;385(3):233-237. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8647258.

444. Paggi MG, Fanciulli M, Del Carlo C, Citro G, Bruno T, Floridi A. Glucose utilization by tumor cells: a post-translational modification of mitochondrial hexokinase may play a regulatory role. *Biochem Biophys Res Commun*. 1991;178(2):648-655.

445. Johansson T, Berrez JM, Nelson BD. Evidence that transcription of the hexokinase gene is increased in a rapidly growing rat hepatoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 1985;133(2):608-613.

446. Nakashima RA, Paggi MG, Pedersen PL. Contributions of glycolysis and oxidative phosphorylation to adenosine 5'-triphosphate production in AS-30D hepatoma cells. *Cancer Res*. 1984;44(12 Pt 1):5702-5706. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6498833.

447. Flier JS, Mueckler MM, Usher P, Lodish HF. Elevated levels of glucose transport and transporter messenger RNA are induced by ras or src oncogenes. *Science (80-).* 1987;235(4795):1492-1495. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3103217.

448. Birnbaum MJ, Haspel HC, Rosen OM. Transformation of rat fibroblasts by FSV rapidly increases glucose transporter gene transcription. *Science (80-).* 1987;235(4795):1495-1498. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3029870.

449. Singh VN, Singh M, August JT, Horecker BL. Alterations in glucose metabolism in chick-embryo cells transformed by Rous sarcoma virus: intracellular levels of glycolytic intermediates. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1974;71(10):4129-4132. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=434342&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

450. Arora KK, Pedersen PL. Functional significance of mitochondrial bound hexokinase in tumor cell metabolism. Evidence for preferential phosphorylation of glucose by intramitochondrially generated ATP. *J Biol Chem*. 1988;263(33):17422-17428. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3182854.

451. Bustamante E, Pedersen PL. High aerobic glycolysis of rat hepatoma cells in culture: Role of mitochondrial hexokinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977;74(9):3735-3739. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=431708&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

452. Printz RL, Magnuson MA, Granner DK. Mammalian glucokinase. *AnnuRevNutr*. 1993;13(0199-9885 (Print) LA-eng PT-Journal Article PT-Research Support, Non-U.S. Gov't PT-Research Support, U.S. Gov't, P.H.S PT-Review RN-0 (RNA, Messenger) RN-EC 2.7.1.2 (Glucokinase) SB-IM):463-496.

453. McDermott EW, Barron ET, Smyth PP, O'Higgins NJ. Premorphological metabolic changes in human breast carcinogenesis. *Br J Surg*. 1990;77(10):1179-1182.

454. Jessani N, Niessen S, Mueller BM, Cravatt BF. Breast Cancer Cell Lines Grown in Vivo: What Goes in Isn ' t Always the Same as What Comes Out. *Cell Cycle*. 2005;4(2):82-84.

455. Scherf U, Ross DT, Waltham M, et al. A gene expression database for the molecular pharmacology of cancer. *Nat Genet*. 2000;24(3):236-244. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10700175.

456. Felding-Habermann B, O'Toole TE, Smith JW, et al. Integrin activation controls metastasis in human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(4):1853-1858. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=29346&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

457. Jessani N, Liu Y, Humphrey M, Cravatt BF. Enzyme activity profiles of the secreted and membrane proteome that depict cancer cell invasiveness. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(16):10335-10340. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=124915&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

458. Freshney RI. *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*. Vol 42. (Sons JW, ed.). Wiley-Liss; 2005. doi:10.1290/BR090501.1.

459. Phelan MC. Basic techniques in mammalian cell tissue culture. *Curr Protoc cell Biol Editor board Juan S Bonifacino al*. 2007;Chapter 1(September):Unit 1.1. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18228494.

460. ATCC. ATCC: The Global Bioresource Center. LGC Standards. http://www.lgcstandards-atcc.org/LGCAdvancedCatalogueSearch/ProductDescription/tabid/1068/Default.aspx?ATCCNum=CRL-2338&Template=cellBiology. Published 2012.

461. Departments of Pathology and Oncology - University of Cambridge. Molecular Cytogenetics of Common Epithelial Cancers. Cancer Genomics Program. http://www.path.cam.ac.uk/~pawefish/cell line catalogues/breast-cell-lines.htm. Published 2004.

462. Rocha JCC da. Para onde caminha a oncogenética? - Oportunidades e desafios. *Onco&*. 2011;Ano 2(8):28-31. www.revistaonco.com.br.

463. Dulbecco R, Freeman G. Plaque production by the polyoma virus. *Virology*. 1959;8(3):396-397. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=13669362.

464. Moore GE, Glick JL. Perspective of human cell culture. *Surg Clin North Am*. 1967;47(6):1315-1324.

465. Ceccarini C, Eagle H. pH as a Determinant of Cellular Growth and Contact Inhibition. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1971;68(1):229-233. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=4322262.

466. Paragon Bioservices. From Research to Preclinical Development. http://www.paragonbioservices.com/Portals/0/Culture-Flasks.png. Published 2009.

467. Sigma-Aldrich. *Fundamental Techniques in Cell Culture Laboratory Handbook - 2nd Edition*.; 2010. http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/protocols/biology/design-and-equipment.html.

468. Diegelmann RF, Cohen IK, McCoy BJ. Growth kinetics and collagen synthesis of normal skin, normal scar and keloid fibroblasts in vitro. *J Cell Physiol*. 1982;98(2):79-86.

469. Keira SM, Ferreira LM, Gragnani A, Duarte IDS, Santos IAN Dos. Experimental model for fibroblast culture. *Acta Cir Bras*. 2004;19(suppl. 1 Sao Paulo):11-16. doi:10.1590/S0102-86502004000700004.

470. Healy GM, Parker RC. Cultivation of mammalian cells in defined media with protein and nonprotein supplements. *J Cell Biol*. 1966;30(3):539-553.

471. Uriel. Camara de Neubauer. http://uriel-93.over-blog.com/article-29526447.html. Published 2009.

472. Life Technologies. Flow Cytometry Tutorials. Invitrogen. http://probes.invitrogen.com/resources/education/tutorials/4Intro_Flow/player.html.

473. Dunn School of Pathology. *Flow Cytometer Instrumentation*.; 2007. http://users.path.ox.ac.uk/.

474. Santa Cruz Biotechnology I. Ki-67 (Ki-67): sc-23900. 2007. www.scbt.com.

475. Santa Cruz Biotechnology I. *Flow Cytometry Protocol*. Santa Cruz - California; 2007. http://www.scbt.com/protocol_flow_cytometry.html.

476. André S, Tomás ANAR, Fonseca R. CARCINOMA DA MAMA - Determinação da Amplificação do HER2 por Hibridação in situ de Fluorescência (FISH). *Acta Med Port*. 2005:417-422.

477. BD Biosciences. *HER-2/neu*. http://www.bdbiosciences.com/ptProduct.jsp?prodId=22711.

478. Gallagher BM, Fowler JS, Gutterson NI, MacGregor RR, Wan CN, Wolf AP. Metabolic trapping as a principle of oradiopharmaceutical design: some factors resposible for the biodistribution of [18F] 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. 1978;19(10):1154-1161. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Entrez/query?db=m&form=6&dopt=r&uid=0000214528.

479. Silverman M, Aganon MA, Chinard FP. Specificity of monosaccharide transport in dog kidney. *Am J Physiol*. 1970;218(3):743-750.

480. Bessell EM, Courtenay VD, Foster AB, Jones M, Westwood JH. Some in vivo and in vitro antitumour effects of the deoxyfluoro-D-glucopyranoses. *Eur J Cancer*. 1973;9(7):463-470.

481. Casse R, Rowe CC, Newton M, Berlangieri SU, Scott AM. Positron emission tomography and positron emission. *Mol Imaging Biol*. 2004;6(2):72-73. doi:10.1016/j.mibio.2004.01.013.

482. The University of British Columbia. Positron Emission Tomography. UBC - Triumf. http://www.pet.ubc.ca/. Published 2010.

483. FNCA Cyclotron and PET in Medicine. *GUIDELINE FOR QUALITY ASSURANCE AND QUALITY CONTROL OF 18F-FDG (2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose)*.; 2011. http://www.fnca.mext.go.jp/english/pet/guideline_2.pdf.

484. Austin Hospital. Centre for Positron Emission Tomography. PET in More Detail - Nuclear Physics and Tomography. http://www.petnm.unimelb.edu.au/pet/detail/nucphysics.html. Published 2007.

485. Yu S. Review of 18F-FDG synthesis and quality control. *Biomed Imaging Interv J*. 2006;2(4). doi:10.2349/biij.2.4.e57.

486. Vallabhajosula S. *Molecular Imaging: Radiopharmaceuticals for PET and SPECT*. Vol 17. Springer; 2003.

487. Barboza MF, Sciani V, Herrerias R, Al. E. Synthesis of 2-[18F] fluor-2 deoxy-D-glucose (18F-FDG). *Alasbimn J*. 2005;7(27). http://www2.alasbimnjournal.cl/alasbimn/CDA/sec_a/0,1205,SCID%25253D12900%252526PRT%25253D12896%252526LNID%25253D10,00.html.

488. Schlyer DJ. PET tracers and radiochemistry. *Ann Acad Med Singapore*. 2004;33(2):146-154. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15098627.

489. Kiesewetter DO, Eckelman WC, Cohen RM, Finn RD, Larson SM. Syntheses and D2 receptor affinities of derivatives of spiperone containing aliphatic halogens. *Int J Radiat Appl Instrum Part A Appl Radiat Isot*. 1986;37(12):1181-1188.

490. Lemaire C, Damhaut P, Lauricella B, et al. Fast [18F]FDG synthesis by alkaline hydrolysis on a low polarity solid phase support. *J Label Compd Radiopharm*. 2002;45(5):435-447. doi:10.1002/jlcr.572.

491. Ventura AR. Análise da Heterogeneidade Intratumoral em Imagens PET-FDG. 2010.

492. Nakao R, Kida T, Suzuki K. Factors affecting quality control of [18F]FDG injection: bacterial endotoxins test, aluminum ions test and HPLC analysis for FDG and CIDG. *Appl Radiat Isot*. 2005;62(6):889-895. doi:10.1016/j.apradiso.2004.11.004.

493. Farn S-S, Yeh Y-H, Lin W-J, Shen L-H. Development and validation of 2-deoxy-2-chloro-d-glucose impurity analysis in [(18)F]FDG by three potential-time waveforms of high-performance liquid chromatography/pulsed amperometric detection. *Nucl Med Biol*. 2009;36(2):225-231. doi:10.1016/j.nucmedbio.2008.11.008.

494. Nakao R, Ito T, Yamaguchi M, Suzuki K. Improved quality control of [18F]FDG by HPLC with UV detection. *Nucl Med Biol*. 2005;32(8):907-912. doi:10.1016/j.nucmedbio.2005.07.002.

495. Nakao R, Ito T, Yamaguchi M, Suzuki K. Simultaneous analysis of FDG, ClDG and Kryptofix 2.2.2 in [18F]FDG preparation by high-performance liquid chromatography with UV detection. *Nucl Med Biol*. 2008;35(2):239-244. doi:10.1016/j.nucmedbio.2007.11.003.

496. Scott PJH, Kilbourn MR. Determination of residual Kryptofix 2.2.2 levels in [18F]-labeled radiopharmaceuticals for human use. *Appl Radiat Isot Incl data Instrum methods use Agric Ind Med*. 2007;65(12):1359-1362. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17582776.

497. ACR R. Positron Emission Tomography – Computed Tomography (PET/CT). RadiologyInfo.Org. http://radiologyinfo.org/en/info.cfm?pg=PET.

498. Kim Y. *Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering*. A John Wiley & Sons, Inc; 2006.

499. Nuclear Medicine Department RAH. Nuclear Medicine, PET & Bone Densitometry. Positron Emission Tomography. http://www.rah.sa.gov.au/nucmed/. Published 2009.

500. Gee A. Principles of Radiotracer Design for Positron Emission Tomography (PET). Research. http://www3.imperial.ac.uk/people/a.gee/research. Published 2010.

501. International A. Heart and Metabolism. Lippincott Williams & Wilkins / Adis International. http://www.heartandmetabolism.org/images/HM34/HM3407gr1.gif. Published 2010.

502. Pereira FC. Sobre o Cáldulo da Atividade e da Atenuação em Tomografia por Emissão a Partir dos dados de Emissão. http://f_crepaldi.sites.uol.com.br/. Published 2000.

503. Grupo de Física Nuclear de la Universidad Complutense de Madrid (GFN-UCM). Fundamentos teoricos dispositivo experimental PET. Webgrupo/archivos. http://nuclear.fis.ucm.es/webgrupo/labo/archivos/guiones_virtual/pet/Fundamentos_teoricos_dispositivo_experimental_PET_html_ceada2d.png. Published 2008.

504. Oikonen V. Table of PET analysis methods. Turku PET Centre. http://www.turkupetcentre.fi/index.php?option=com_content&view=article&id=202&lang=en. Published 2010.

505. Oikonen V. Standardized Uptake Value (SUV). Turku PET Centre. http://www.turkupetcentre.fi/index.php?option=com_content&view=article&id=185&Itemid=69&lang=en. Published 2011.

506. Zhao S, Kuge Y, Mochizuki T, et al. Biologic Correlates of Intratumoral Heterogeneity in 18 F-FDG Distribution with Regional Expression of Glucose Transporters and Hexokinase-II in Experimental Tumor. *J Nucl Med*. 2005;46:675-682.

507. Charnley N, Airley R, Plessis DDU, et al. No relationship between 18 F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography and expression of Glut-1 and -3 and hexokinase I and II in high-grade glioma. *Oncol Rep*. 2008;20(3):537-542. doi:10.3892/or.

508. Feuardent J, Soret M, Dreuille O De, Foehrenbach H, Buvat I. Reliability of SUV estimates in FDG PET as a function of acquisition and processing protocols. *Spectrum*. 2003;0(C):1-5.

509. Benz MR, Evilevitch V, Allen-Auerbach MS, et al. Treatment monitoring by 18F-FDG PET/CT in patients with sarcomas: interobserver variability of quantitative parameters in treatment-induced changes in histopathologically responding and nonresponding tumors. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. 2008;49(7):1038-1046. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18552153.

510. Sompuram SR, Vani K, Messana E, Bogen SA. Anatomic Pathology / A MOLECULAR MODEL OF FORMALIN FIXATION A Molecular Mechanism of Formalin Fixation and Antigen Retrieval. *Am J Clin Pathol*. 2004;121:190-199. doi:10.1309/BRN7CTX1E84NWWPL.

511. IMUNO-HISTOQUÍMICA | FONTE MEDICINA DIAGNÓSTICA. http://fontemd.com/exames/imuno-histoquimica/. Accessed October 23, 2017.

512. Borges ABF. *IMUNOHISTOQUÍMICA*. Outubro 20. (Ferro AB, ed.).; 2013.

513. Pissarra H. Estudo da Infecção por Besnoitia besnoiti : Aplicação da Imunohistoquímica na Avaliação da Resposta Celular Inflamatória Peri-quistica. 2008. http://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/1042/1/17198_Tese_Hugo_Pissarra.pdf. Accessed October 23, 2017.

514. Costa L. *aula_8_Eng*. Lisboa https://pt.scribd.com/presentation/45983467/Neoplasias.

515. Parker JS, Mullins M, Cheang MCU, et al. Supervised Risk Predictor of Breast Cancer Based on Intrinsic Subtypes. *J Clin Oncol*. 27:1160-1167. doi:10.1200/JCO.2008.18.1370.

516. García Vicente AM, Soriano Castrejón Á, León Martín A, et al. Molecular subtypes of breast cancer: Metabolic correlation with 18F-FDG PET/CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2013;40(9). doi:10.1007/s00259-013-2418-7.

517. Laurentiis M De, Cianniello D, Caputo R, et al. Treatment of triple negative breast cancer (TNBC): current options and future perspectives. *Cancer Treat Rev*. 2010;36 Suppl 3:S80-6. doi:10.1016/S0305-7372(10)70025-6.

518. Dai X, Li T, Bai Z, et al. Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. *Am J Cancer Res*. 2015;5(10):2929-2943. doi:www.ajcr.us/ISSN:2156-6976/ajcr0014158.

519. Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, et al. Subtyping of Breast Cancer by Immunohistochemistry to Investigate a Relationship between Subtype and Short and Long Term Survival: A Collaborative Analysis of Data for 10,159 Cases from 12 Studies. 2010;7(5). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2876119/pdf/pmed.1000279.pdf. Accessed October 27, 2017.

520. Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(10):736-750. doi:10.1093/jnci/djp082.

521. Tang G, Shak S, Paik S, et al. Comparison of the Prognostic and Predictive Utilities of the 21-Gene Recurrence Score Assay and Adjuvant! for Women with Node-Negative, ER-Positive Breast Cancer: Results from NSABP B-14 and NSABP B-20. *Breast Cancer Res Treat*. 2011;127(1):133-142. doi:10.1007/s10549-010-1331-z.

522. Groheux D, Cochet A, Humbert O, Alberini J-L, Hindié E, Mankoff D. ^{18}F-FDG PET/CT for Staging and Restaging of Breast Cancer. *J Nucl Med*. 2016;57 Suppl 1(Supplement 1):17S-26S. doi:10.2967/jnumed.115.157859.

523. Gil-Rendo A, Martínez-Regueira F, Zornoza G, García-Velloso MJ, Beorlegui C, Rodriguez-Spiteri N. Association between [18F]fluorodeoxyglucose uptake and prognostic parameters in breast cancer. *Br J Surg*. 2009;96(2):166-170. doi:10.1002/bjs.6459.

524. Buck A, Schirrmeister H, Kühn T, et al. FDG uptake in breast cancer: correlation with biological and clinical prognostic parameters. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2002;29(10):1317-1323. doi:10.1007/s00259-002-0880-8.

525. Basu S, Chen W, Tchou J, et al. Comparison of triple-negative and estrogen receptor-positive/progesterone receptor-positive/HER2-negative breast carcinoma using quantitative fluorine-18 fluorodeoxyglucose/positron emission tomography imaging parameters. *Cancer*. 2008;112(5):995-1000. doi:10.1002/cncr.23226.

526. Groheux D, Giacchetti S, Moretti J-LL, et al. Correlation of high 18F-FDG uptake to clinical, pathological and biological prognostic factors in breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011;38(3):426-435. doi:10.1007/s00259-010-1640-9.

527. Heudel P, Cimarelli S, Montella A, Bouteille C, Mognetti T. Value of PET-FDG in primary breast cancer based on histopathological and immunohistochemical prognostic factors. *Int J Clin Oncol*. 2010;15(6):588-593. doi:10.1007/s10147-010-0120-3.

528. Wiechmann L, Sampson M, Stempel M, et al. Presenting features of breast cancer differ by molecular subtype. *Ann Surg Oncol*. 2009;16(10):2705-2710. doi:10.1245/s10434-009-0606-2.

529. Zhou W, He Z, Xue J, et al. Molecular subtype classification is a determinant of non-sentinel lymph node metastasis in breast cancer patients with positive sentinel lymph nodes. Aziz SA, ed. *PLoS One*. 2012;7(4):e35881. doi:10.1371/journal.pone.0035881.

530. Basu S, Chen W, Tchou J, et al. Comparison of triple-negative and estrogen receptor-positive/progesterone receptor-positive/HER2-negative breast carcinoma using quantitative fluorine-18 fluorodeoxyglucose/positron emission tomography imaging parameters: a potentially useful method for d. *Cancer*. 2008;112(5):995-1000. doi:10.1002/cncr.23226.

531. Shimoda W, Hayashi M, Murakami K, Oyama T, Sunagawa M. The relationship between FDG uptake in PET scans and biological behavior in breast cancer. *Breast Cancer*. 2007;14(3):260-268. doi:10.2325/jbcs.14.260.

532. Groheux D, Giacchetti S, Moretti J-L, et al. Correlation of high 18F-FDG uptake to clinical, pathological and biological prognostic factors in breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011;38(3):426-435. doi:10.1007/s00259-010-1640-9.

533. Mavi A, Cermik TF, Urhan M, et al. The Effects of Estrogen, Progesterone, and C-erbB-2 Receptor States on 18F-FDG Uptake of Primary Breast Cancer Lesions. *J Nucl Med*. 2007;48(8):1266-1272. doi:10.2967/jnumed.106.037440.

534. Osborne JR, Port E, Gonen M, et al. 18F-FDG PET of Locally Invasive Breast Cancer and Association of Estrogen Receptor Status with Standardized Uptake Value: Microarray and Immunohistochemical Analysis. *J Nucl Med*. 2010;51(4):543-550. doi:10.2967/jnumed.108.060459.

535. P., LAUDANSKI ; M., KODA ; L., KOZLOWSKI ; J., SWIATECKA ; M., WOJTUKIEWICZ ; S., SULKOWSKI ; S. W; Expression of glucose transporter GLUT-1 and estrogen receptors ER-? and ER-ß in human breast cancer. *Neoplasma*. 2004;51:164-168. http://www.elis.sk/index.php?page=shop.product_details&flypage=flypage.tpl&product_id=868&category_id=32&option=com_virtuemart&vmcchk=1&Itemid=1. Accessed October 28, 2017.

536. Aloj L, Caracó C, Jagoda E, Eckelman WC, Neumann RD. Glut-1 and hexokinase expression: relationship with 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose uptake in A431 and T47D cells in culture. *Cancer Res*. 1999;59(18):4709-4714. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10493529.

537. Marom EM, Aloia T a, Moore MB, et al. Correlation of FDG-PET imaging with Glut-1 and Glut-3 expression in early-stage non-small cell lung cancer. *Lung cancer*. 2001;33(2-3):99-107. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11551404.

538. Collison M, Campbell IW, Salt IP, et al. Sex hormones induce insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes by reducing cellular content of IRS proteins. *Diabetologia*. 2000;43(11):1374-1380. http://eprints.gla.ac.uk/15934/.

539. Crippa F, Seregni E, Agresti R, et al. Association between [18 F]fluorodeoxyglucose uptake and postoperative histopathology, hormone receptor status, thymidine labelling index and p53 in primary breast cancer: a preliminary observation. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 1998;25(10):1429-1434. doi:10.1007/s002590050319.

540. Buck A, Schirrmeister H, Kühn T, et al. FDG uptake in breast cancer: correlation with biological and clinical prognostic parameters. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2002;29(10):1317-1323. doi:10.1007/s00259-002-0880-8.

541. Avril N, Bense S, Ziegler SI, et al. Breast imaging with fluorine-18-FDG PET: quantitative image analysis. *J Nuc Med*. 1997;38(8):1186-1191. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9255146.

542. Avril N, Rosé CA, Schelling M, et al. Breast imaging with positron emission tomography and fluorine-18 fluorodeoxyglucose: use and limitations. *J Clin Oncol*. 2000;18(20):3495-3502. doi:10.1200/JCO.2000.18.20.3495.

543. Groheux D, Giacchetti S, Rubello D, et al. The evolving role of PET/CT in breast cancer. *Nucl Med Commun*. 2010;31(4):271-273. doi:10.1097/MNM.0b013e3283354cb4.

544. Jung S-Y, Kim HY, Nam B-H, et al. Worse prognosis of metaplastic breast cancer patients than other patients with triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2010;120(3):627-637. doi:10.1007/s10549-010-0780-8.

545. Crippa F, Seregni E, Agresti R, et al. Association between [18F]fluorodeoxyglucose uptake and postoperative histopathology, hormone receptor status, thymidine labelling index and p53 in primary breast cancer: a preliminary observation. *Eur J Nucl Med*. 1998;25(10):1429-1434. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9818284. Accessed October 28, 2017.

546. Kumar R, Rani N, Patel C, Basu S, Alavi A. False-Negative and False-Positive Results in FDG-PET and PET/CT in Breast Cancer. *PET Clin*. 2009;4(3):289-298. doi:10.1016/j.cpet.2009.09.002.

547. Colozza M, Azambuja E, Cardoso F, Sotiriou C, Larsimont D, Piccart MJ. Proliferative markers as prognostic and predictive tools in early breast cancer: where are we now? *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO*. 2005;16(11):1723-1739. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15980158.

548. Weidner N, Moore DH, Vartanian R. Correlation of Ki-67 antigen expression with mitotic figure index and tumor grade in breast carcinomas using the novel "paraffin"-reactive MIB1 antibody. *Hum Pathol*. 1994;25(4):337-342. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8163266.

549. Veronese SM, Maisano C, Scibilia J. Comparative prognostic value of Ki-67 and MIB-1 proliferation indices in breast cancer. *Anticancer Res*. 1995;15(6B):2717-2722.

550. Sahin AA, Ro JY, Blick MB, et al. Ki-67 immunostaining in node-negative stage I/II breast carcinoma. Significant correlation with prognosis. *Cancer*. 1991;68(3):549-557. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1648433.

551. Veronese SM, Gambacorta M, Gottardi O, Scanzi F, Ferrari M, Lampertico P. Proliferation index as a prognostic marker in breast cancer. *Cancer*. 1993;71(12):3926-3931. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8508358.

552. Viale G, Giobbie-Hurder A, Regan MM, et al. Prognostic and Predictive Value of Centrally Reviewed Ki-67 Labeling Index in Postmenopausal Women With Endocrine-Responsive Breast Cancer: Results From Breast International Group Trial 1-98 Comparing Adjuvant Tamoxifen With Letrozole. *J Clin Oncol*. 2008;26(34):5569-5575. http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2008.17.0829.

553. Mirza AN, Mirza NQ, Vlastos G, Singletary SE. Prognostic factors in node-negative breast cancer: a review of studies with sample size more than 200 and follow-up more than 5 years. *Ann*

Surg. 2002;235(1):10-26.

554. Trihia H, Murray S, Price K, et al. Ki-67 expression in breast carcinoma - Its association with grading systems, clinical parameters, and other prognostic factors - A surrogate marker? *Cancer*. 2003;97(5):1321-1331. http://eprints.gla.ac.uk/22008/.

555. Al Tamimi DM, Shawarby MA, Ahmed A, Hassan AK, AlOdaini AA. Protein expression profile and prevalence pattern of the molecular classes of breast cancer - a Saudi population based study. *BMC Cancer*. 2010;10:223. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2880995&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

556. Wiesner FG, Magener A, Fasching PA, et al. Ki-67 as a prognostic molecular marker in routine clinical use in breast cancer patients. *Breast Edinburgh Scotl*. 2009;18(2):135-141. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19342238.

557. Clahsen PC, Van De Velde CJ, Duval C, et al. The utility of mitotic index, oestrogen receptor and Ki-67 measurements in the creation of novel prognostic indices for node-negative breast cancer. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol*. 1999;25(4):356-363.

558. Locker AP, Birrell K, Bell JA, et al. Ki67 immunoreactivity in breast carcinoma: relationships to prognostic variables and short term survival. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol*. 1992;18(3):224-229.

559. Goodson WH, Moore DH, Ljung BM, et al. The prognostic value of proliferation indices: a study with in vivo bromodeoxyuridine and Ki-67. *Breast Cancer Res Treat*. 2000;59(2):113-123. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10817346.

560. Imamura H, Haga S, Shimizu T, Watanabe O, Kajiwara T, Aiba M. Prognostic significance of MIB1-determined proliferative activities in intraductal components and invasive foci associated with invasive ductal breast carcinoma. *Br J Cancer*. 1999;79(1):172-178. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2362174&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

561. Lee AK, Loda M, Mackarem G, et al. Lymph node negative invasive breast carcinoma 1 centimeter or less in size (T1a,bNOMO): clinicopathologic features and outcome. *Cancer*. 1997;79(4):761-771.

562. Jung S-Y, Han W, Lee JW, et al. Ki-67 expression gives additional prognostic information on St. Gallen 2007 and Adjuvant! Online risk categories in early breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2009;16(5):1112-1121. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19219507.

563. Piñero-Madrona A, Polo-García L, Alonso-Romero JL, et al. Immunohistochemical characterisation of breast cancer: towards a new clasification? *Cir Esp*. 2008;84(3):138-145.

564. Berriolo-Riedinger A, Touzery C, Riedinger J-M, et al. [18F]FDG-PET predicts complete pathological response of breast cancer to neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2007;34(12):1915-1924. doi:10.1007/s00259-007-0459-5.

565. Kumar R, Chauhan A, Zhuang H, Chandra P, Schnall M, Alavi A. Clinicopathologic factors associated with false negative FDG–PET in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2006;98(3):267-274. doi:10.1007/s10549-006-9159-2.

566. Ikenaga N, Otomo N, Toyofuku A, et al. Standardized uptake values for breast carcinomas assessed by fluorodeoxyglucose-positron emission tomography correlate with prognostic factors. *Am Surg*. 2007;73(11):1151-1157. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18092653. Accessed October 28, 2017.

567. Vesselle H, Schmidt RA, Pugsley JM, et al. Lung cancer proliferation correlates with [F-18]fluorodeoxyglucose uptake by positron emission tomography. *Clin Cancer Res*. 2000;6(10):3837-3844. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11051227.

568. Buck AK, Halter G, Schirrmeister H, et al. *Imaging Proliferation in Lung Tumors with PET: 18F-FLT versus 18F-FDG*. Vol 44. Soc Nuclear Med; 2003. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12960187.

569. van Baardwijk A, Dooms C, van Suylen RJ, et al. The maximum uptake of (18)F-deoxyglucose on positron emission tomography scan correlates with survival, hypoxia inducible factor-1alpha and GLUT-1 in non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer*. 2007;43(9):1392-1398.

doi:10.1016/j.ejca.2007.03.027.

570. Yap CS, Czernin J, Fishbein MC, et al. Evaluation of thoracic tumors with 18F-fluorothymidine and 18F-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography. *Chest*. 2006;129(2):393-401. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16478857.

571. Di Chiro G. Positron emission tomography using [18F] fluorodeoxyglucose in brain tumors. A powerful diagnostic and prognostic tool. *Invest Radiol*. 1987;22(5):360-371. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3496318.

572. Folpe AL, Lyles RH, Sprouse JT, Conrad EU, Eary JF. (F-18) fluorodeoxyglucose positron emission tomography as a predictor of pathologic grade and other prognostic variables in bone and soft tissue sarcoma. *Clin Cancer Res*. 2000;6(4):1279-1287. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10778952.

573. Kole AC, Nieweg OE, Hoekstra HJ, Van Horn JR, Koops HS, Vaalburg W. Fluorine-18-fluorodeoxyglucose assessment of glucose metabolism in bone tumors. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. 1998;39(5):810-815.

574. Fulham MJ, Melisi JW, Nishimiya J, Dwyer AJ, Di Chiro G. Neuroimaging of juvenile pilocytic astrocytomas: an enigma. *Radiology*. 1993;189(1):221-225.

575. Warning K, Hildebrandt MG, Kristensen B, Ewertz M. Utility of 18 FDG-PET / CT in breast cancer diagnostics – a systematic review.

576. Evangelista L, Baretta Z, Vinante L, Sotti G, Carlo P. Tumour Markers and Molecular Imaging with FDG PET/CT in Breast Cancer: Their Combination for Improving the Prediction of Disease Relapse. In: *Positron Emission Tomography - Current Clinical and Research Aspects*. InTech; 2012. doi:10.5772/29352.

577. Suárez M, Pérez-Castejón MJ, Jiménez A, et al. Early diagnosis of recurrent breast cancer with FDG-PET in patients with progressive elevation of serum tumor markers. *Q J Nucl Med*. 2002;46(2):113-121. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12114874. Accessed October 28, 2017.

578. Ugrinska A, Bombardieri E, Stokkel MPM, Crippa F, Pauwels EKJ. Circulating tumor markers and nuclear medicine imaging modalities: breast, prostate and ovarian cancer. *Q J Nucl Med*. 2002;46(2):88-104. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12114872. Accessed October 28, 2017.

579. Siggelkow W, Rath W, Buell U, Zimny M. FDG PET and tumour markers in the diagnosis of recurrent and metastatic breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2004;31(June). doi:10.1007/s00259-004-1534-9.

580. YY., SHEN ; C.T., SU ; G.J., CHEN ; Y.K., CHEN ; A.C., LIAO ; F.S. T. The value of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography with the additional help of tumor markers in cancer screening. *Neoplasma*. 2003;50:217-221. http://www.elis.sk/index.php?page=shop.product_details&flypage=flypage.tpl&product_id=782&category_id=31&option=com_virtuemart&vmcchk=1&Itemid=1. Accessed October 28, 2017.

581. Serena, Evangelista L, AlSharif A, et al. Correlation of FDG PET parameters with clinical, immunohistochemical features and luminal categories of breast cancer. *J Nucl Med*. 2014;55(supplement 1):1551-1551. http://jnm.snmjournals.org/content/55/supplement_1/1551.abstract?sid=18630901-e44a-4d3f-9a61-23bb24f35a6b&utm_source=TrendMD&utm_medium=cpc&utm_campaign=J_Nucl_Med_TrendMD_0. Accessed October 19, 2017.

582. Oshida M, Uno K, Suzuki M, et al. Predicting the prognoses of breast carcinoma patients with positron emission tomography using 2-deoxy-2-fluoro[18F]-D-glucose. *Cancer*. 1998;82(11):2227-2234. doi:10.1002/(SICI)1097-0142(19980601)82:11<2227::AID-CNCR18>3.0.CO;2-W.

583. Uematsu T, Kasami M, Yuen S. Comparison of FDG PET and MRI for evaluating the tumor extent of breast cancer and the impact of FDG PET on the systemic staging and prognosis of patients who are candidates for breast-conserving therapy. *Breast Cancer*. 2009;16(2):97-104. doi:10.1007/s12282-008-0065-9.

584. Kumar R, Zhuang H, Schnall M, et al. FDG PET positive lymph nodes are highly predictive of metastasis in breast cancer. *Nucl Med Commun*. 2006;27(3):231-236.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16479242. Accessed October 29, 2017.

585. Weber WA. Use of PET for monitoring cancer therapy and for predicting outcome. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. 2005;46(6):983-995. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15937310.

586. Weber WA, Petersen V, Schmidt B, et al. Positron emission tomography in non-small-cell lung cancer: prediction of response to chemotherapy by quantitative assessment of glucose use. *J Clin Oncol*. 2003;21(14):2651-2657. doi:10.1200/JCO.2003.12.004.

587. M. Juhani Knuuti, Pirjo Nuutila, Ulla Ruotsalainen, Markku Saraste, Risto HÃ¤rkOnen AA, Mika TerÃ¤s,Merja Haaparanta, Uno Wegelius, Arto Haapanen, Jaakko Hartiala and, Liisa-Maria Voipio-Pulkki. Euglycemic Hyperinsulinemic Clamp and Oral Glucose Load in Stimulating Myocardial Glucose Utilization During Positron Emission Tomography. *J Nucl Med*. 1992;33:1255-1262. http://jnm.snmjournals.org/content/33/7/1255.full.pdf. Accessed October 29, 2017.

588. Bos R, van Der Hoeven JJM, van Der Wall E, et al. Biologic correlates of (18)fluorodeoxyglucose uptake in human breast cancer measured by positron emission tomography. *J Clin Oncol*. 2002;20(2):379-387. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11786564.

589. Westerterp M, Sloof GW, Hoekstra OS, et al. 18FDG uptake in oesophageal adenocarcinoma: linking biology and outcome. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2008;134(2):227-236. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17653575.

590. Yen T-C, See L-C, Lai C-HC-R, et al. *18F-FDG Uptake in Squamous Cell Carcinoma of the Cervix Is Correlated with Glucose Transporter 1 Expression.* Vol 45.; 2004. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14734665.

591. Tohma T, Okazumi S, Makino H, et al. Relationship between glucose transporter, hexokinase and FDG-PET in esophageal cancer. *Hepatogastroenterology*. 2005;52(62):486-490. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15816463.

592. Yamada K, Brink I, Bissé E, Epting T, Engelhardt R. Factors influencing [F-18] 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose (F-18 FDG) uptake in melanoma cells: the role of proliferation rate, viability, glucose transporter expression and hexokinase activity. *J Dermatol*. 2005;32(5):316-334. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16043894.

593. de Geus-Oei L-F, van Krieken JHJM, Aliredjo RP, et al. Biological correlates of FDG uptake in non-small cell lung cancer. *Lung cancer*. 2007;55(1):79-87. doi:10.1016/j.lungcan.2006.08.018.

594. Mamede M, Higashi T, Kitaichi M, et al. [18F]FDG Uptake and PCNA, Glut-1, and Hexokinase-II Expressions in Cancers and Inflammatory Lesions of the Lung. *Neoplasia*. 2005;7(4):369-379. doi:10.1593/neo.04577.

595. Rich PR. The molecular machinery of Keilin's respiratory chain. *Biochem Soc Trans*. 2003;31(Pt 6):1095-1105. http://discovery.ucl.ac.uk/130074/.

596. Morel O. Positron emission tomography using FDG. *Rev linfirmiere*. 2006;(124):41.

597. Strauss LG, Kabelitz D, Kremer B, et al. Positron-emission tomography in oncology. *Dtsch medizinische Wochenschrift 1946*. 2003;114(2):445-470-478. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14971150.

598. Rivenzon-Segal D, Boldin-Adamsky S, Seger D, Seger R, Degani H. Glycolysis and glucose transporter 1 as markers of response to hormonal therapy in breast cancer. *Int J cancer J Int du cancer*. 2003;107(2):177-182. doi:10.1002/ijc.11387.

599. Artemov D, Bhujwalla ZM, Pilatus U, Glickson JD. Two-compartment model for determination of glycolytic rates of solid tumors by in vivo 13C NMR spectroscopy. *NMR Biomed*. 1998;11(8):395-404.

600. Mathupala SP, Rempel A, Pedersen PL. Aberrant glycolytic metabolism of cancer cells: a remarkable coordination of genetic, transcriptional, post-translational, and mutational events that lead to a critical role for type II hexokinase. *J Bioenerg Biomembr*. 1997;29(4):339-343. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9387094.

601. Kunkel M, Reichert TE, Benz P, et al. Overexpression of Glut-1 and increased glucose metabolism in tumors are associated with a poor prognosis in patients with oral squamous cell

carcinoma. *Cancer*. 2003;97(4):1015-1024. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12569601.

602. Mochiki E, Kuwano H, Katoh H, Asao T, Oriuchi N, Endo K. Evaluation of 18F-2-deoxy-2-fluoro-D-glucose positron emission tomography for gastric cancer. *World J Surg*. 2004;28(3):247-253. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14961197.

603. Postovit LM, Adams MA, Lash GE, Heaton JP. Oxygen-mediated Regulation of Tumor Cell Invasiveness. *J Biol*. 2002.

604. He X, Brenchley PEC, Jayson GC, Hampson L, Davies J, Hampson IN. Hypoxia increases heparanase-dependent tumor cell invasion, which can be inhibited by antiheparanase antibodies. *Cancer Res*. 2004;64(11):3928-3933. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15173004.

605. Büchler P, Reber HA, Büchler MWM, et al. Hypoxia-inducible factor 1 regulates vascular endothelial growth factor expression in human pancreatic cancer. *Pancreas*. 2003;40(2):56-64. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12499918.

606. Postovit L-M, Adams MA, Lash GE, Heaton JPW, Graham CH. Nitric oxide-mediated regulation of hypoxia-induced B16F10 melanoma metastasis. *Int J cancer J Int du cancer*. 2004;108(1):47-53. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14618614.

607. Krtolica A, Ludlow JW. Hypoxia arrests ovarian carcinoma cell cycle progression, but invasion is unaffected. *Cancer Res*. 1996;56(5):1168-1173.

608. Lippman ME, Bolan G. Oestrogen-responsive human breast cancer in long term tissue culture. *Nature*. 1975;256(5518):592-593.

609. Soule HD, McGrath CM. Estrogen responsive proliferation of clonal human breast carcinoma cells in athymic mice. *Cancer Lett*. 1980;10(2):177-189.

610. Neeman M, Degani H. Metabolic Studies of Estrogen- and Tamoxifen-treated Human Breast Cancer Cells by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Metabolic Studies of Estrogen- and Tamoxifen-treated Human Breast Cancer Cells. *Cancer Res*. 1989:589-594.

611. Birrell SN, Bentel JM, Hickey TE, et al. Androgens induce divergent proliferative responses in human breast cancer cell lines. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1995;52(5):459-467. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7748811.

612. Charlier C, Chariot A, Antoine N, Merville MP, Gielen J, Castronovo V. Tamoxifen and its active metabolite inhibit growth of estrogen receptor-negative MDA-MB-435 cells. *Biochem Pharmacol*. 1995;49(3):351-358.

613. Cailleau R, Olivé M, Cruciger Q V. Long-term human breast carcinoma cell lines of metastatic origin: preliminary characterization. *In Vitro*. 1978;14(11):911-915. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/730202.

614. E.A. V, A.E. H, F.K. G-V, J. L, R. L. of estrogen receptor beta in human breast tumors and cell lines. *Oncol Rep*. 2000;7(1):157-167.

615. Osborne CK, Hobbs K, Trent JM. Biological differences among MCF-7 human breast cancer cell lines from different laboratories. *Breast Cancer Res Treat*. 1987;9(2):111-121. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3620713.

616. Laranjo, M; Carvalho, MJ; Costa, T; Alves, A; Oliveira, RC; Casalta-Lopes, J; Cordeiro, P; Botas, F; Abrantes, A; Paiva, A; Oliveira, C; Botelho F. Mammospheres of hormonal receptor positive breast cancer divergr to triple-negative phenotype. *The Breast*.

617. Burdall SE, Hanby AM, Lansdown MRJ, Speirs V. Breast cancer cell lines: friend or foe? *Breast Cancer Res*. 2003;5(2):89-95. doi:10.1186/bcr577.

618. Thompson EW, Paik S, Brünner N, et al. Association of increased basement membrane invasiveness with absence of estrogen receptor and expression of vimentin in human breast cancer cell lines. *J Cell Physiol*. 1992;150(3):534-544. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1537883.

619. Okumura K, Konishi A, Tanaka M, Kanazawa M, Kogawa K, Niitsu Y. Establishment of high- and low-invasion clones derived for a human tongue squamous-cell carcinoma cell line SAS. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1996;122(4):243-248.

620. Wiseman BS, Werb Z. Stromal effects on mammary gland development and breast cancer. *Science (80-)*. 2002;296(5570):1046-1049. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2788989&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

621. Turashvili G, Bouchal J, Burkadze G, Kolar Z. Mammary gland development and cancer. *Cesk Patol*. 2005;78(3):94-101.

622. Bissell MJ, Radisky DC, Rizki A, Weaver VM, Petersen OW. The organizing principle: microenvironmental influences in the normal and malignant breast. *Differ Res Biol Divers*. 2002;70(9-10):537-546. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2933198&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

623. Price JE, Polyzos A, Zhang RD, Daniels LM. Tumorigenicity and metastasis of human breast carcinoma cell lines in nude mice. *Cancer Res*. 1990;50(3):717-721. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2297709.

624. Jessani N, Humphrey M, McDonald WH, et al. Carcinoma and stromal enzyme activity profiles associated with breast tumor growth in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(38):13756-13761. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=518829&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

625. Brown RS, Leung JY, Fisher SJ, Frey K a, Ethier SP, Wahl RL. Intratumoral distribution of tritiated-FDG in breast carcinoma: correlation between Glut-1 expression and FDG uptake. *J Nucl Med*. 1996;37(6):1042-1047. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8683298.

626. Soret M, Bacharach SL, Buvat I. Partial-volume effect in PET tumor imaging. *J Nucl Med*. 2007;48(6):932-945. doi:10.2967/jnumed.106.035774.

627. El Fakhri G, Santos PA, Badawi RD, Holdsworth CH, Van Den Abbeele AD, Kijewski MF. Impact of Acquisition Geometry, Image Processing, and Patient Size on Lesion Detection in Whole-Body 18F-FDG PET. *J Nucl Med*. 2007;48(12):1951-1960. doi:10.2967/jnumed.108.007369.

628. Bos R. Biologic Correlates of 18Fluorodeoxyglucose Uptake in Human Breast Cancer Measured by Positron Emission Tomography. *J Clin Oncol*. 2002;20(2):379-387. doi:10.1200/JCO.20.2.379.

629. Shimoda W, Hayashi M, Murakami K, Oyama T, Sunagawa M, Hayashw M. The relationship between FDG uptake in PET scans and biological behavior in breast cancer. *Breast Cancer*. 2007;14(3):260-268. doi:10.2325/jbcs.14.260.

11. Anexos

Anexo 1. Análise descritiva dos resultados das captações *in vitro* de ^{18}F-FDG

Case Processing Summary

		Cases		
		Valid		Missing
	Linha_Condição	N	Percent	N
Captação 0 min (%)	MCF7 HG	30	55,6%	24
	HCC1806 HG	42	58,3%	30
	HCC1954 HG	11	42,3%	15
	MCF7 LG	44	71,0%	18
	HCC1806 LG	29	90,6%	3
	HCC1954 LG	14	43,8%	18
	HFF1 LG	4	44,4%	5

Case Processing Summary

		Cases		
		Missing	Total	
	Linha_Condição	Percent	N	Percent
Captação 0 min (%)	MCF7 HG	44,4%	54	100,0%
	HCC1806 HG	41,7%	72	100,0%
	HCC1954 HG	57,7%	26	100,0%
	MCF7 LG	29,0%	62	100,0%
	HCC1806 LG	9,4%	32	100,0%
	HCC1954 LG	56,3%	32	100,0%
	HFF1 LG	55,6%	9	100,0%

Descriptives[a]

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 0 min (%)	MCF7 HG	Mean		,961673	,1030454
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,750922	
			Upper Bound	1,172425	
		5% Trimmed Mean		,948364	
		Median		1,021377	
		Variance		,319	
		Std. Deviation		,5644027	
		Minimum		,0510	
		Maximum		2,1526	
		Range		2,1016	
		Interquartile Range		,9490	
		Skewness		,128	,427
		Kurtosis		-,948	,833
	HCC1806 HG	Mean		1,413519	,1377432
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,135341	
			Upper Bound	1,691697	
		5% Trimmed Mean		1,352976	
		Median		1,175041	
		Variance		,797	
		Std. Deviation		,8926779	
		Minimum		,4410	
		Maximum		3,5835	
		Range		3,1424	
		Interquartile Range		1,4000	
		Skewness		,965	,365
		Kurtosis		-,118	,717
	HCC1954 HG	Mean		,588604	,0958403
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,375058	
			Upper Bound	,802149	
		5% Trimmed Mean		,596429	
		Median		,634934	
		Variance		,101	
		Std. Deviation		,3178663	
		Minimum		,0564	
		Maximum		,9799	
		Range		,9235	
		Interquartile Range		,4822	
		Skewness		-,634	,661
		Kurtosis		-,516	1,279
	MCF7 LG	Mean		1,345981	,1008037
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,142691	
			Upper Bound	1,549271	

Descriptives[a]

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 0 min (%)	MCF7 LG	5% Trimmed Mean		1,313786	
		Median		1,424646	
		Variance		,447	
		Std. Deviation		,6686562	
		Minimum		,3395	
		Maximum		3,0393	
		Range		2,6998	
		Interquartile Range		1,1225	
		Skewness		,487	,357
		Kurtosis		-,248	,702
	HCC1806 LG	Mean		,713829	,0516990
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,607928	
			Upper Bound	,819730	
		5% Trimmed Mean		,715948	
		Median		,738703	
		Variance		,078	
		Std. Deviation		,2784077	
		Minimum		,2153	
		Maximum		1,1807	
		Range		,9654	
		Interquartile Range		,5031	
		Skewness		-,129	,434
		Kurtosis		-1,334	,845
	HCC1954 LG	Mean		1,459175	,3586588
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,684340	
			Upper Bound	2,234010	
		5% Trimmed Mean		1,256832	
		Median		1,006931	
		Variance		1,801	
		Std. Deviation		1,3419782	
		Minimum		,7425	
		Maximum		5,8180	
		Range		5,0755	
		Interquartile Range		,4127	
		Skewness		3,078	,597
		Kurtosis		9,897	1,154

Descriptives[a]

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 0 min (%)	HFF1 LG	Mean		1,058689	,1259652
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,657812	
			Upper Bound	1,459566	
		5% Trimmed Mean		1,061479	
		Median		1,083798	
		Variance		,063	
		Std. Deviation		,2519303	
		Minimum		,7383	
		Maximum		1,3288	
		Range		,5905	
		Interquartile Range		,4840	
		Skewness		-,505	1,014
		Kurtosis		-,259	2,619

a. There are no valid cases for Captação 0 min (%) when Linha_Condição = 4,000. Statistics cannot be computed for this level.

Tests of Normality[b]

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk
	Linha_Condição	Statistic	df	Sig.	Statistic
Captação 0 min (%)	MCF7 HG	,124	30	,200	,955
	HCC1806 HG	,149	42	,020	,876
	HCC1954 HG	,188	11	,200*	,910
	MCF7 LG	,121	44	,104	,950
	HCC1806 LG	,138	29	,166	,938
	HCC1954 LG	,379	14	,000	,528
	HFF1 LG	,165	4	.	,986

Tests of Normality[b]

		Shapiro-Wilk	
	Linha_Condição	df	Sig.
Captação 0 min (%)	MCF7 HG	30	,229
	HCC1806 HG	42	,000
	HCC1954 HG	11	,246
	MCF7 LG	44	,057
	HCC1806 LG	29	,088
	HCC1954 LG	14	,000
	HFF1 LG	4	,934

a. Lilliefors Significance Correction
*. This is a lower bound of the true significance.
b. There are no valid cases for Captação 0 min (%) when Linha_Condição = 4,000. Statistics cannot be computed for this level.

Case Processing Summary

		Cases		
		Valid		Missing
	Linha_Condição	N	Percent	N
Captação 5 min (%)	MCF7 HG	42	77,8%	12
	HCC1806 HG	45	62,5%	27
	HCC1954 HG	22	84,6%	4
	HFF1 HG	6	75,0%	2
	MCF7 LG	44	71,0%	18
	HCC1806 LG	26	81,3%	6
	HCC1954 LG	22	68,8%	10
	HFF1 LG	7	77,8%	2

Case Processing Summary

		Cases		
		Missing	Total	
	Linha_Condição	Percent	N	Percent
Captação 5 min (%)	MCF7 HG	22,2%	54	100,0%
	HCC1806 HG	37,5%	72	100,0%
	HCC1954 HG	15,4%	26	100,0%
	HFF1 HG	25,0%	8	100,0%
	MCF7 LG	29,0%	62	100,0%
	HCC1806 LG	18,8%	32	100,0%
	HCC1954 LG	31,3%	32	100,0%
	HFF1 LG	22,2%	9	100,0%

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 5 min (%)	MCF7 HG	Mean		,92808719630	,09458112526
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,73707673881	
			Upper Bound	1,1190976538	
		5% Trimmed Mean		,89540479116	
		Median		,88588415139	
		Variance		,376	
		Std. Deviation		,61295574778	
		Minimum		,0346740638	
		Maximum		2,5730552106	
		Range		2,5383811468	
		Interquartile Range		1,0718933458	
		Skewness		,620	,365
		Kurtosis		-,093	,717
	HCC1806 HG	Mean		1,0270837254	,08221430846
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,86139167405	
			Upper Bound	1,1927757769	
		5% Trimmed Mean		1,0172128403	
		Median		,98783812790	
		Variance		,304	
		Std. Deviation		,55151034732	
		Minimum		,1519722929	
		Maximum		2,1748858856	
		Range		2,0229135926	
		Interquartile Range		,9498654329	
		Skewness		,185	,354
		Kurtosis		-1,099	,695
	HCC1954 HG	Mean		1,4592352204	,19635483251
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,0508929922	
			Upper Bound	1,8675774486	
		5% Trimmed Mean		1,4016683748	
		Median		1,2521532811	
		Variance		,848	
		Std. Deviation		,92098580096	
		Minimum		,0577616879	
		Maximum		3,9709857007	
		Range		3,9132240128	
		Interquartile Range		1,3258704857	
		Skewness		1,067	,491
		Kurtosis		1,177	,953
	HFF1 HG	Mean		,85610397158	,10437600738
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,58779690292	
			Upper Bound	1,1244110402	
		5% Trimmed Mean		,87355358796	
		Median		,96033242529	
		Variance		,065	
		Std. Deviation		,25566795949	
		Minimum		,3500163081	

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 5 min (%)	HFF1 HG	Maximum		1,0480985402	
		Range		,6980822321	
		Interquartile Range		,2602593619	
		Skewness		-2,135	,845
		Kurtosis		4,782	1,741
	MCF7 LG	Mean		1,6866202009	,12094844162
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,4427044221	
			Upper Bound	1,9305359796	
		5% Trimmed Mean		1,6521557029	
		Median		1,5848502046	
		Variance		,644	
		Std. Deviation		,80228119970	
		Minimum		,4717236023	
		Maximum		3,7726049388	
		Range		3,3008813364	
		Interquartile Range		1,1756076206	
		Skewness		,586	,357
		Kurtosis		-,244	,702
	HCC1806 LG	Mean		,82239337387	,08488068061
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,64757833976	
			Upper Bound	,99720840797	
		5% Trimmed Mean		,81751122945	
		Median		,93934694659	
		Variance		,187	
		Std. Deviation		,43280824677	
		Minimum		,1486746003	
		Maximum		1,5807978738	
		Range		1,4321232734	
		Interquartile Range		,7456080675	
		Skewness		-,078	,456
		Kurtosis		-1,147	,887
	HCC1954 LG	Mean		2,1923974263	,40567354362
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,3487531085	
			Upper Bound	3,0360417441	
		5% Trimmed Mean		1,8788040057	
		Median		1,6127824888	
		Variance		3,621	
		Std. Deviation		1,9027775823	
		Minimum		,7683433820	
		Maximum		9,7878081687	
		Range		9,0194647867	
		Interquartile Range		1,3464239735	
		Skewness		3,269	,491
		Kurtosis		12,764	,953
	HFF1 LG	Mean		2,0505659456	,65364583457
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,45115220661	
			Upper Bound	3,6499796847	

Descriptives

Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 5 min (%)	HFF1 LG	5% Trimmed Mean	1,8785649180	
		Median	1,4491692148	
		Variance	2,991	
		Std. Deviation	1,7293843237	
		Minimum	1,2374973934	
		Maximum	5,9596529952	
		Range	4,7221556018	
		Interquartile Range	,34655417025	
		Skewness	2,610	,794
		Kurtosis	6,854	1,587

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk
	Linha_Condição	Statistic	df	Sig.	Statistic
Captação 5 min (%)	MCF7 HG	,107	42	,200*	,949
	HCC1806 HG	,119	45	,122	,954
	HCC1954 HG	,201	22	,021	,915
	HFF1 HG	,327	6	,045	,708
	MCF7 LG	,132	44	,054	,950
	HCC1806 LG	,136	26	,200*	,937
	HCC1954 LG	,227	22	,004	,634
	HFF1 LG	,452	7	,000	,527

Tests of Normality

		Shapiro-Wilk	
	Linha_Condição	df	Sig.
Captação 5 min (%)	MCF7 HG	42	,060
	HCC1806 HG	45	,071
	HCC1954 HG	22	,061
	HFF1 HG	6	,008
	MCF7 LG	44	,057
	HCC1806 LG	26	,111
	HCC1954 LG	22	,000
	HFF1 LG	7	,000

a. Lilliefors Significance Correction
*. This is a lower bound of the true significance.

Case Processing Summary

		Cases		
		Valid		Missing
	Linha_Condição	N	Percent	N
Captação 15 min (%)	MCF7 HG	39	72,2%	15
	HCC1806 HG	45	62,5%	27
	HCC1954 HG	11	42,3%	15
	MCF7 LG	45	72,6%	17
	HCC1806 LG	29	90,6%	3
	HCC1954 LG	20	62,5%	12
	HFF1 LG	4	44,4%	5

Case Processing Summary

		Cases		
		Missing	Total	
	Linha_Condição	Percent	N	Percent
Captação 15 min (%)	MCF7 HG	27,8%	54	100,0%
	HCC1806 HG	37,5%	72	100,0%
	HCC1954 HG	57,7%	26	100,0%
	MCF7 LG	27,4%	62	100,0%
	HCC1806 LG	9,4%	32	100,0%
	HCC1954 LG	37,5%	32	100,0%
	HFF1 LG	55,6%	9	100,0%

Descriptives [a]

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 15 min (%)	MCF7 HG	Mean		,82273565418	,08536998573
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,64991315328	
			Upper Bound	,99555815507	
		5% Trimmed Mean		,80572900459	
		Median		,61408687290	
		Variance		,284	
		Std. Deviation		,53313539004	
		Minimum		,09161481071	
		Maximum		1,8352689594	
		Range		1,7436541486	
		Interquartile Range		1,0372039377	
		Skewness		,433	,378
		Kurtosis		-1,197	,741
	HCC1806 HG	Mean		1,5826102344	,10294533835
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,3751375376	
			Upper Bound	1,7900829313	
		5% Trimmed Mean		1,5465577689	
		Median		1,5509522149	
		Variance		,477	
		Std. Deviation		,69057832355	
		Minimum		,53468865254	
		Maximum		3,7548424051	
		Range		3,2201537526	
		Interquartile Range		,95684219086	
		Skewness		,798	,354
		Kurtosis		,845	,695
	HCC1954 HG	Mean		1,0832248842	,14961916495
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,74985260983	
			Upper Bound	1,4165971586	
		5% Trimmed Mean		1,0749320404	
		Median		,86672081353	
		Variance		,246	
		Std. Deviation		,49623063159	
		Minimum		,39835084423	
		Maximum		1,9173701123	
		Range		1,5190192681	
		Interquartile Range		,75872633711	
		Skewness		,618	,661
		Kurtosis		-,922	1,279
	MCF7 LG	Mean		2,0071230080	,08214686394
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,8415668821	
			Upper Bound	2,1726791340	

Descriptives [a]

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 15 min (%)	MCF7 LG	5% Trimmed Mean		2,0131730915	
		Median		1,9514541381	
		Variance		,304	
		Std. Deviation		,55105791575	
		Minimum		,64622413192	
		Maximum		3,2836933976	
		Range		2,6374692657	
		Interquartile Range		,54589017620	
		Skewness		,058	,354
		Kurtosis		,621	,695
	HCC1806 LG	Mean		,93044717805	,09795437477
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,72979673720	
			Upper Bound	1,1310976189	
		5% Trimmed Mean		,92426358786	
		Median		1,0022944780	
		Variance		,278	
		Std. Deviation		,52750045172	
		Minimum		,24678622725	
		Maximum		1,7317961770	
		Range		1,4850099498	
		Interquartile Range		1,0114984241	
		Skewness		,064	,434
		Kurtosis		-1,535	,845
	HCC1954 LG	Mean		2,3468803930	,24653941144
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,8308674745	
			Upper Bound	2,8628933115	
		5% Trimmed Mean		2,3302154081	
		Median		2,3404352670	
		Variance		1,216	
		Std. Deviation		1,1025577662	
		Minimum		,79599508137	
		Maximum		4,1977354322	
		Range		3,4017403508	
		Interquartile Range		2,1859146272	
		Skewness		-,063	,512
		Kurtosis		-1,193	,992

Descriptives[a]

Linha_Condição				Statistic	Std. Error
Captação 15 min (%)	HFF1 LG	Mean		2,2089473486	,02488851238
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2,1297409944	
			Upper Bound	2,2881537029	
		5% Trimmed Mean		2,2075408990	
		Median		2,1962893016	
		Variance		,002	
		Std. Deviation		,04977702477	
		Minimum		2,1660521417	
		Maximum		2,2771586498	
		Range		,11110650805	
		Interquartile Range		,09213345912	
		Skewness		1,140	1,014
		Kurtosis		,548	2,619

a. There are no valid cases for Captação 15 min (%) when Linha_Condição = 4,000. Statistics cannot be computed for this level.

Tests of Normality[b]

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk
	Linha_Condição	Statistic	df	Sig.	Statistic
Captação 15 min (%)	MCF7 HG	,170	39	,006	,911
	HCC1806 HG	,110	45	,200*	,950
	HCC1954 HG	,269	11	,025	,889
	MCF7 LG	,133	45	,043	,961
	HCC1806 LG	,164	29	,046	,899
	HCC1954 LG	,159	20	,199	,916
	HFF1 LG	,228	4	.	,909

Tests of Normality[b]

		Shapiro-Wilk	
	Linha_Condição	df	Sig.
Captação 15 min (%)	MCF7 HG	39	,005
	HCC1806 HG	45	,049
	HCC1954 HG	11	,136
	MCF7 LG	45	,136
	HCC1806 LG	29	,009
	HCC1954 LG	20	,082
	HFF1 LG	4	,479

a. Lilliefors Significance Correction
*. This is a lower bound of the true significance.
b. There are no valid cases for Captação 15 min (%) when Linha_Condição = 4,000. Statistics cannot be computed for this level.

Linha_Condição

Case Processing Summary

		Cases		
		Valid		Missing
	Linha_Condição	N	Percent	N
Captação 30 min (%)	MCF7 HG	42	77,8%	12
	HCC1806 HG	40	55,6%	32
	HCC1954 HG	22	84,6%	4
	HFF1 HG	8	100,0%	0
	MCF7 LG	39	62,9%	23
	HCC1806 LG	29	90,6%	3
	HCC1954 LG	22	68,8%	10
	HFF1 LG	7	77,8%	2

Case Processing Summary

		Cases		
		Missing	Total	
	Linha_Condição	Percent	N	Percent
Captação 30 min (%)	MCF7 HG	22,2%	54	100,0%
	HCC1806 HG	44,4%	72	100,0%
	HCC1954 HG	15,4%	26	100,0%
	HFF1 HG	,0%	8	100,0%
	MCF7 LG	37,1%	62	100,0%
	HCC1806 LG	9,4%	32	100,0%
	HCC1954 LG	31,3%	32	100,0%
	HFF1 LG	22,2%	9	100,0%

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 30 min (%)	MCF7 HG	Mean		1,3267414889	,14485061102
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,0342097453	
			Upper Bound	1,6192732325	
		5% Trimmed Mean		1,3124584892	
		Median		,98303451185	
		Variance		,881	
		Std. Deviation		,93873925006	
		Minimum		,13096098265	
		Maximum		2,8193009088	
		Range		2,6883399261	
		Interquartile Range		1,9386206751	
		Skewness		,335	,365
		Kurtosis		-1,545	,717
	HCC1806 HG	Mean		1,2476711687	,08218518805
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,0814359351	
			Upper Bound	1,4139064024	
		5% Trimmed Mean		1,2342620100	
		Median		1,2136973766	
		Variance		,270	
		Std. Deviation		,51978476836	
		Minimum		,45742915131	
		Maximum		2,4794870645	
		Range		2,0220579132	
		Interquartile Range		,86721690037	
		Skewness		,282	,374
		Kurtosis		-,863	,733
	HCC1954 HG	Mean		2,0622503314	,36917475228
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,2945094054	
			Upper Bound	2,8299912573	
		5% Trimmed Mean		1,9511074846	
		Median		1,5011752306	
		Variance		2,998	
		Std. Deviation		1,7315830762	
		Minimum		,37100501485	
		Maximum		5,8003378837	
		Range		5,4293328689	
		Interquartile Range		2,0707902515	
		Skewness		1,092	,491
		Kurtosis		-,138	,953
	HFF1 HG	Mean		1,0773018963	,08529403079
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,87561356256	
			Upper Bound	1,2789902300	

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 30 min (%)	HFF1 HG	5% Trimmed Mean		1,0787304010	
		Median		1,0877417714	
		Variance		,058	
		Std. Deviation		,24124795028	
		Minimum		,72345144426	
		Maximum		1,4054392637	
		Range		,68198781950	
		Interquartile Range		,43674505691	
		Skewness		-,085	,752
		Kurtosis		-1,316	1,481
	MCF7 LG	Mean		3,7842699266	,35327996699
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,0690920232	
			Upper Bound	4,4994478300	
		5% Trimmed Mean		3,6919795418	
		Median		2,5962203692	
		Variance		4,867	
		Std. Deviation		2,2062326867	
		Minimum		,59923485321	
		Maximum		8,6772009029	
		Range		8,0779660497	
		Interquartile Range		3,3100638725	
		Skewness		,891	,378
		Kurtosis		-,357	,741
	HCC1806 LG	Mean		,97669137283	,11251363570
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,74621763790	
			Upper Bound	1,2071651077	
		5% Trimmed Mean		,96604261083	
		Median		,80888752367	
		Variance		,367	
		Std. Deviation		,60590447132	
		Minimum		,18963596600	
		Maximum		1,9931618618	
		Range		1,8035258958	
		Interquartile Range		1,2136214745	
		Skewness		,257	,434
		Kurtosis		-1,527	,845

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 30 min (%)	HCC1954 LG	Mean		4,3552706380	,82583003032
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2,6378630735	
			Upper Bound	6,0726782024	
		5% Trimmed Mean		3,8743947896	
		Median		3,6219127969	
		Variance		15,004	
		Std. Deviation		3,8734861891	
		Minimum		,84679957545	
		Maximum		16,889542658	
		Range		16,042743083	
		Interquartile Range		4,0871795646	
		Skewness		2,113	,491
		Kurtosis		5,149	,953
	HFF1 LG	Mean		3,8122198753	1,3282098459
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,56220746240	
			Upper Bound	7,0622322883	
		5% Trimmed Mean		3,4890535866	
		Median		2,8233923085	
		Variance		12,349	
		Std. Deviation		3,5141129414	
		Minimum		1,7503731703	
		Maximum		11,691059777	
		Range		9,9406866074	
		Interquartile Range		1,2637015262	
		Skewness		2,520	,794
		Kurtosis		6,506	1,587

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk
	Linha_Condição	Statistic	df	Sig.	Statistic
Captação 30 min (%)	MCF7 HG	,164	42	,006	,869
	HCC1806 HG	,124	40	,126	,954
	HCC1954 HG	,199	22	,024	,829
	HFF1 HG	,168	8	,200*	,957
	MCF7 LG	,278	39	,000	,845
	HCC1806 LG	,167	29	,037	,895
	HCC1954 LG	,206	22	,016	,757
	HFF1 LG	,433	7	,000	,596

Tests of Normality

		Shapiro-Wilk	
	Linha_Condição	df	Sig.
Captação 30 min (%)	MCF7 HG	42	,000
	HCC1806 HG	40	,105
	HCC1954 HG	22	,001
	HFF1 HG	8	,782
	MCF7 LG	39	,000
	HCC1806 LG	29	,008
	HCC1954 LG	22	,000
	HFF1 LG	7	,000

a. Lilliefors Significance Correction
*. This is a lower bound of the true significance.

Linha_Condição

Case Processing Summary

		Cases		
		Valid		Missing
	Linha_Condição	N	Percent	N
Captação 45 min (%)	MCF7 HG	45	83,3%	9
	HCC1806 HG	44	61,1%	28
	HCC1954 HG	13	50,0%	13
	MCF7 LG	40	64,5%	22
	HCC1806 LG	29	90,6%	3
	HCC1954 LG	22	68,8%	10
	HFF1 LG	4	44,4%	5

Case Processing Summary

		Cases		
		Missing	Total	
	Linha_Condição	Percent	N	Percent
Captação 45 min (%)	MCF7 HG	16,7%	54	100,0%
	HCC1806 HG	38,9%	72	100,0%
	HCC1954 HG	50,0%	26	100,0%
	MCF7 LG	35,5%	62	100,0%
	HCC1806 LG	9,4%	32	100,0%
	HCC1954 LG	31,3%	32	100,0%
	HFF1 LG	55,6%	9	100,0%

Descriptives [a]

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 45 min (%)	MCF7 HG	Mean		1,1820798917	,1025885711
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,9753262120	
			Upper Bound	1,3888335715	
		5% Trimmed Mean		1,1708436186	
		Median		1,0585911544	
		Variance		,474	
		Std. Deviation		,6881850563	
		Minimum		,1516252711	
		Maximum		2,4434031705	
		Range		2,2917778993	
		Interquartile Range		,7762869239	
		Skewness		,490	,354
		Kurtosis		-,709	,695
	HCC1806 HG	Mean		1,5635762527	,1308848189
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,2996218592	
			Upper Bound	1,8275306461	
		5% Trimmed Mean		1,4817589425	
		Median		1,3662559020	
		Variance		,754	
		Std. Deviation		,8681916707	
		Minimum		,4648795506	
		Maximum		5,7320586147	
		Range		5,2671790641	
		Interquartile Range		1,0664318616	
		Skewness		2,615	,357
		Kurtosis		11,464	,702
	HCC1954 HG	Mean		2,0473824947	,4793901704
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,0028810408	
			Upper Bound	3,0918839486	
		5% Trimmed Mean		1,9122241409	
		Median		1,1054310494	
		Variance		2,988	
		Std. Deviation		1,7284658406	
		Minimum		,5090833914	
		Maximum		6,0185319661	
		Range		5,5094485747	
		Interquartile Range		1,4567818671	
		Skewness		1,637	,616
		Kurtosis		1,842	1,191
	MCF7 LG	Mean		3,7897923341	,2394150863
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,3055296128	
			Upper Bound	4,2740550553	

Descriptives[a]

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 45 min (%)	MCF7 LG	5% Trimmed Mean		3,7765084535	
		Median		3,5593138519	
		Variance		2,293	
		Std. Deviation		1,5141939579	
		Minimum		,45819181660	
		Maximum		7,6623451014	
		Range		7,2041532848	
		Interquartile Range		1,3008792628	
		Skewness		,584	,374
		Kurtosis		1,091	,733
	HCC1806 LG	Mean		1,0910043300	,13545567019
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,81353596777	
			Upper Bound	1,3684726922	
		5% Trimmed Mean		1,0701879053	
		Median		,77945783281	
		Variance		,532	
		Std. Deviation		,72945110806	
		Minimum		,23518464798	
		Maximum		2,3154481430	
		Range		2,0802634950	
		Interquartile Range		1,4667331535	
		Skewness		,586	,434
		Kurtosis		-1,394	,845
	HCC1954 LG	Mean		6,2650455058	1,3750998690
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,4053687802	
			Upper Bound	9,1247222313	
		5% Trimmed Mean		5,5319827105	
		Median		4,8458229208	
		Variance		41,600	
		Std. Deviation		6,4497900971	
		Minimum		,92752898116	
		Maximum		24,807417974	
		Range		23,879888993	
		Interquartile Range		5,9240750965	
		Skewness		2,278	,491
		Kurtosis		5,172	,953
	HFF1 LG	Mean		3,9399545411	,14371927894
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,4825756528	
			Upper Bound	4,3973334294	
		5% Trimmed Mean		3,9400928958	
		Median		3,9411997335	
		Variance		,083	
		Std. Deviation		,28743855789	
		Minimum		3,6874110492	
		Maximum		4,1900076482	
		Range		,50259659896	
		Interquartile Range		,50021286460	
		Skewness		,000	1,014
		Kurtosis		-5,996	2,619

a. There are no valid cases for Captação 45 min (%) when Linha_Condição = 4,000. Statistics cannot be computed for this level.

Tests of Normality[b]

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk
	Linha_Condição	Statistic	df	Sig.	Statistic
Captação 45 min (%)	MCF7 HG	,140	45	,028	,918
	HCC1806 HG	,116	44	,157	,786
	HCC1954 HG	,246	13	,031	,760
	MCF7 LG	,178	40	,003	,916
	HCC1806 LG	,261	29	,000	,835
	HCC1954 LG	,303	22	,000	,679
	HFF1 LG	,306	4	.	,737

Tests of Normality[b]

		Shapiro-Wilk	
	Linha_Condição	df	Sig.
Captação 45 min (%)	MCF7 HG	45	,004
	HCC1806 HG	44	,000
	HCC1954 HG	13	,002
	MCF7 LG	40	,006
	HCC1806 LG	29	,000
	HCC1954 LG	22	,000
	HFF1 LG	4	,029

a. Lilliefors Significance Correction
b. There are no valid cases for Captação 45 min (%) when Linha_Condição = 4,000. Statistics cannot be computed for this level.

Linha_Condição

Case Processing Summary

		Cases		
		Valid		Missing
	Linha_Condição	N	Percent	N
Captação 60 min (%)	MCF7 HG	45	83,3%	9
	HCC1806 HG	42	58,3%	30
	HCC1954 HG	22	84,6%	4
	HFF1 HG	4	50,0%	4
	MCF7 LG	45	72,6%	17
	HCC1806 LG	29	90,6%	3
	HCC1954 LG	24	75,0%	8
	HFF1 LG	7	77,8%	2

Case Processing Summary

		Cases		
		Missing	Total	
	Linha_Condição	Percent	N	Percent
Captação 60 min (%)	MCF7 HG	16,7%	54	100,0%
	HCC1806 HG	41,7%	72	100,0%
	HCC1954 HG	15,4%	26	100,0%
	HFF1 HG	50,0%	8	100,0%
	MCF7 LG	27,4%	62	100,0%
	HCC1806 LG	9,4%	32	100,0%
	HCC1954 LG	25,0%	32	100,0%
	HFF1 LG	22,2%	9	100,0%

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 60 min (%)	MCF7 HG	Mean		1,6619298471	,17783038465
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,3035362562	
			Upper Bound	2,0203234381	
		5% Trimmed Mean		1,6010726132	
		Median		1,1609378556	
		Variance		1,423	
		Std. Deviation		1,1929224856	
		Minimum		,09624139344	
		Maximum		4,4556493105	
		Range		4,3594079171	
		Interquartile Range		2,0483581436	
		Skewness		,718	,354
		Kurtosis		-,687	,695
	HCC1806 HG	Mean		1,4420770131	,10902790333
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,2218906954	
			Upper Bound	1,6622633308	
		5% Trimmed Mean		1,4203187572	
		Median		1,3972994249	
		Variance		,499	
		Std. Deviation		,70658157038	
		Minimum		,25539497002	
		Maximum		3,4497119455	
		Range		3,1943169755	
		Interquartile Range		1,1719986516	
		Skewness		,373	,365
		Kurtosis		,027	,717
	HCC1954 HG	Mean		2,8528015734	,36388108890
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2,0960694231	
			Upper Bound	3,6095337237	
		5% Trimmed Mean		2,7699894749	
		Median		2,3613976214	
		Variance		2,913	
		Std. Deviation		1,7067535941	
		Minimum		,53445789924	
		Maximum		6,6358799317	
		Range		6,1014220324	
		Interquartile Range		2,2930520371	
		Skewness		,909	,491
		Kurtosis		,159	,953
	HFF1 HG	Mean		1,6734411442	,15429115663
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,1824178228	
			Upper Bound	2,1644644656	

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 60 min (%)	HFF1 HG	5% Trimmed Mean		1,6753619146	
		Median		1,6907280776	
		Variance		,095	
		Std. Deviation		,30858231327	
		Minimum		1,3166676059	
		Maximum		1,9956408155	
		Range		,67897320962	
		Interquartile Range		,59136658465	
		Skewness		-,208	1,014
		Kurtosis		-3,011	2,619
	MCF7 LG	Mean		6,8314751969	,92841926345
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	4,9603691178	
			Upper Bound	8,7025812759	
		5% Trimmed Mean		6,0673347371	
		Median		4,4847998394	
		Variance		38,788	
		Std. Deviation		6,2280257540	
		Minimum		,64298218319	
		Maximum		28,205128205	
		Range		27,562146021	
		Interquartile Range		4,7547596154	
		Skewness		2,017	,354
		Kurtosis		4,166	,695
	HCC1806 LG	Mean		1,2865791999	,15049087826
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,97831261011	
			Upper Bound	1,5948457897	
		5% Trimmed Mean		1,2581231705	
		Median		1,0753428785	
		Variance		,657	
		Std. Deviation		,81041818142	
		Minimum		,29769658297	
		Maximum		2,7911746489	
		Range		2,4934780659	
		Interquartile Range		1,4978067316	
		Skewness		,528	,434
		Kurtosis		-1,023	,845
	HCC1954 LG	Mean		7,9832404800	1,8010778700
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	4,2574270373	
			Upper Bound	11,709053922	
		5% Trimmed Mean		6,8059643253	
		Median		6,7428185992	
		Variance		77,853	
		Std. Deviation		8,8234435370	
		Minimum		1,0597553777	
		Maximum		36,687286958	
		Range		35,627531581	
		Interquartile Range		6,6243532733	

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 60 min (%)	HCC1954 LG	Skewness		2,583	,472
		Kurtosis		6,701	,918
	HFF1 LG	Mean		4,8718947446	1,3679035644
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,5247553014	
			Upper Bound	8,2190341878	
		5% Trimmed Mean		4,5893169308	
		Median		3,9174779786	
		Variance		13,098	
		Std. Deviation		3,6191326491	
		Minimum		2,0229319878	
		Maximum		12,807258149	
		Range		10,784326161	
		Interquartile Range		1,9871381540	
		Skewness		2,279	,794
		Kurtosis		5,639	1,587

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk
	Linha_Condição	Statistic	df	Sig.	Statistic
Captação 60 min (%)	MCF7 HG	,184	45	,001	,898
	HCC1806 HG	,101	42	,200*	,964
	HCC1954 HG	,164	22	,129	,914
	HFF1 HG	,222	4	.	,951
	MCF7 LG	,321	45	,000	,740
	HCC1806 LG	,141	29	,149	,906
	HCC1954 LG	,320	24	,000	,638
	HFF1 LG	,383	7	,003	,699

Tests of Normality

		Shapiro-Wilk	
	Linha_Condição	df	Sig.
Captação 60 min (%)	MCF7 HG	45	,001
	HCC1806 HG	42	,205
	HCC1954 HG	22	,058
	HFF1 HG	4	,724
	MCF7 LG	45	,000
	HCC1806 LG	29	,014
	HCC1954 LG	24	,000
	HFF1 LG	7	,004

a. Lilliefors Significance Correction
*. This is a lower bound of the true significance.

Linha_Condição

Case Processing Summary

		Cases		
		Valid		Missing
	Linha_Condição	N	Percent	N
Captação 90 min (%)	MCF7 HG	45	83,3%	9
	HCC1806 HG	39	54,2%	33
	HCC1954 HG	20	76,9%	6
	HFF1 HG	6	75,0%	2
	MCF7 LG	51	82,3%	11
	HCC1806 LG	29	90,6%	3
	HCC1954 LG	32	100,0%	0
	HFF1 LG	6	66,7%	3

Case Processing Summary

		Cases		
		Missing	Total	
	Linha_Condição	Percent	N	Percent
Captação 90 min (%)	MCF7 HG	16,7%	54	100,0%
	HCC1806 HG	45,8%	72	100,0%
	HCC1954 HG	23,1%	26	100,0%
	HFF1 HG	25,0%	8	100,0%
	MCF7 LG	17,7%	62	100,0%
	HCC1806 LG	9,4%	32	100,0%
	HCC1954 LG	,0%	32	100,0%
	HFF1 LG	33,3%	9	100,0%

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 90 min (%)	MCF7 HG	Mean		1,8149230767	,18529854933
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,4414783888	
			Upper Bound	2,1883677646	
		5% Trimmed Mean		1,6962632226	
		Median		1,3125936379	
		Variance		1,545	
		Std. Deviation		1,2430204573	
		Minimum		,28641979791	
		Maximum		5,4460143399	
		Range		5,1595945420	
		Interquartile Range		1,4332638967	
		Skewness		1,594	,354
		Kurtosis		2,174	,695
	HCC1806 HG	Mean		1,6342222735	,12702522488
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,3770731496	
			Upper Bound	1,8913713974	
		5% Trimmed Mean		1,6252474572	
		Median		1,5438164237	
		Variance		,629	
		Std. Deviation		,79327227515	
		Minimum		,45459728233	
		Maximum		3,0074663317	
		Range		2,5528690493	
		Interquartile Range		1,5190799934	
		Skewness		,254	,378
		Kurtosis		-1,374	,741
	HCC1954 HG	Mean		3913,5738205	3909,8119580
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-4269,756655	
			Upper Bound	12096,904296	
		5% Trimmed Mean		3,9444283109	
		Median		2,9288564663	
		Variance		3,057E8	
		Std. Deviation		17485,210634	
		Minimum		,47670217292	
		Maximum		78200,000000	
		Range		78199,523297	
		Interquartile Range		6,2635374336	
		Skewness		4,472	,512
		Kurtosis		20,000	,992
	HFF1 HG	Mean		1,1124402145	,15247375187
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,72049395759	
			Upper Bound	1,5043864715	

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 90 min (%)	HFF1 HG	5% Trimmed Mean		1,1134395085	
		Median		1,0861792942	
		Variance		,139	
		Std. Deviation		,37348289125	
		Minimum		,67074519053	
		Maximum		1,5361479474	
		Range		,86540275691	
		Interquartile Range		,79173208492	
		Skewness		,110	,845
		Kurtosis		-2,070	1,741
	MCF7 LG	Mean		7,8380686165	1,0800811876
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	5,6686617053	
			Upper Bound	10,007475527	
		5% Trimmed Mean		6,6852487190	
		Median		5,6055308952	
		Variance		59,495	
		Std. Deviation		7,7133224983	
		Minimum		,80247556140	
		Maximum		43,840663136	
		Range		43,038187574	
		Interquartile Range		4,0794028924	
		Skewness		3,318	,333
		Kurtosis		12,816	,656
	HCC1806 LG	Mean		1,3819756114	,18829256436
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,99627577788	
			Upper Bound	1,7676754450	
		5% Trimmed Mean		1,3174126689	
		Median		,99070826410	
		Variance		1,028	
		Std. Deviation		1,0139864910	
		Minimum		,37640875225	
		Maximum		3,5505695324	
		Range		3,1741607801	
		Interquartile Range		1,6749755907	
		Skewness		1,026	,434
		Kurtosis		-,285	,845
	HCC1954 LG	Mean		14,329664179	3,4839148848
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	7,2241729255	
			Upper Bound	21,435155432	
		5% Trimmed Mean		11,203541290	
		Median		9,8685405677	
		Variance		388,405	
		Std. Deviation		19,707998721	
		Minimum		1,1370191577	
		Maximum		84,243511021	
		Range		83,106491863	
		Interquartile Range		4,7868162875	

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 90 min (%)	HCC1954 LG	Skewness		3,000	,414
		Kurtosis		8,800	,809
	HFF1 LG	Mean		4,5162887744	,58732602739
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,0065191568	
			Upper Bound	6,0260583921	
		5% Trimmed Mean		4,5083861392	
		Median		4,3654130407	
		Variance		2,070	
		Std. Deviation		1,4386490797	
		Minimum		2,9418187937	
		Maximum		6,2330061889	
		Range		3,2911873952	
		Interquartile Range		3,1365601510	
		Skewness		,226	,845
		Kurtosis		-1,943	1,741

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk
	Linha_Condição	Statistic	df	Sig.	Statistic
Captação 90 min (%)	MCF7 HG	,265	45	,000	,809
	HCC1806 HG	,175	39	,004	,916
	HCC1954 HG	,538	20	,000	,236
	HFF1 HG	,202	6	,200*	,898
	MCF7 LG	,271	51	,000	,624
	HCC1806 LG	,269	29	,000	,826
	HCC1954 LG	,418	32	,000	,537
	HFF1 LG	,204	6	,200*	,883

Tests of Normality

		Shapiro-Wilk	
	Linha_Condição	df	Sig.
Captação 90 min (%)	MCF7 HG	45	,000
	HCC1806 HG	39	,007
	HCC1954 HG	20	,000
	HFF1 HG	6	,362
	MCF7 LG	51	,000
	HCC1806 LG	29	,000
	HCC1954 LG	32	,000
	HFF1 LG	6	,283

a. Lilliefors Significance Correction
*. This is a lower bound of the true significance.

Linha_Condição

Case Processing Summary

		Cases		
		Valid		Missing
	Linha_Condição	N	Percent	N
Captação 120 min (%)	MCF7 HG	48	88,9%	6
	HCC1806 HG	44	61,1%	28
	HCC1954 HG	19	73,1%	7
	HFF1 HG	6	75,0%	2
	MCF7 LG	53	85,5%	9
	HCC1806 LG	29	90,6%	3
	HCC1954 LG	32	100,0%	0
	HFF1 LG	7	77,8%	2

Case Processing Summary

		Cases		
		Missing	Total	
	Linha_Condição	Percent	N	Percent
Captação 120 min (%)	MCF7 HG	11,1%	54	100,0%
	HCC1806 HG	38,9%	72	100,0%
	HCC1954 HG	26,9%	26	100,0%
	HFF1 HG	25,0%	8	100,0%
	MCF7 LG	14,5%	62	100,0%
	HCC1806 LG	9,4%	32	100,0%
	HCC1954 LG	,0%	32	100,0%
	HFF1 LG	22,2%	9	100,0%

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 120 min (%)	MCF7 HG	Mean		2,2008182679	,21749943767
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,7632658375	
			Upper Bound	2,6383706984	
		5% Trimmed Mean		2,0658295569	
		Median		1,7354620309	
		Variance		2,271	
		Std. Deviation		1,5068803066	
		Minimum		,51099890556	
		Maximum		6,5578384463	
		Range		6,0468395408	
		Interquartile Range		2,1300399025	
		Skewness		1,390	,343
		Kurtosis		1,217	,674
	HCC1806 HG	Mean		1,7072990561	,12821731989
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,4487241873	
			Upper Bound	1,9658739249	
		5% Trimmed Mean		1,6755853867	
		Median		1,4552071906	
		Variance		,723	
		Std. Deviation		,85049748344	
		Minimum		,48995239408	
		Maximum		3,7007124915	
		Range		3,2107600974	
		Interquartile Range		1,4091259378	
		Skewness		,474	,357
		Kurtosis		-,843	,702
	HCC1954 HG	Mean		3,6142482673	,52484922203
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2,5115809690	
			Upper Bound	4,7169155657	
		5% Trimmed Mean		3,4485670973	
		Median		2,7431511944	
		Variance		5,234	
		Std. Deviation		2,2877647194	
		Minimum		1,2351285078	
		Maximum		8,9756290865	
		Range		7,7405005787	
		Interquartile Range		3,0647625342	
		Skewness		1,240	,524
		Kurtosis		,872	1,014
	HFF1 HG	Mean		1,2371156231	,21143805657
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,69359679559	
			Upper Bound	1,7806344507	

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 120 min (%)	HFF1 HG	5% Trimmed Mean		1,2398822246	
		Median		1,2881729401	
		Variance		,268	
		Std. Deviation		,51791535081	
		Minimum		,65649374377	
		Maximum		1,7679386764	
		Range		1,1114449327	
		Interquartile Range		1,0128782893	
		Skewness		-,103	,845
		Kurtosis		-2,925	1,741
	MCF7 LG	Mean		16,240674323	2,2200486459
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	11,785820800	
			Upper Bound	20,695527845	
		5% Trimmed Mean		15,177114621	
		Median		8,5396423711	
		Variance		261,217	
		Std. Deviation		16,162198102	
		Minimum		,81577017761	
		Maximum		51,495327102	
		Range		50,679556925	
		Interquartile Range		13,241004813	
		Skewness		1,150	,327
		Kurtosis		-,284	,644
	HCC1806 LG	Mean		1,7011170657	,22668793780
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,2367678749	
			Upper Bound	2,1654662564	
		5% Trimmed Mean		1,6202745682	
		Median		1,1253961780	
		Variance		1,490	
		Std. Deviation		1,2207519048	
		Minimum		,36073288020	
		Maximum		4,5827313453	
		Range		4,2219984650	
		Interquartile Range		2,0515809020	
		Skewness		,947	,434
		Kurtosis		-,236	,845
	HCC1954 LG	Mean		14,791608164	3,4767895657
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	7,7006490947	
			Upper Bound	21,882567233	
		5% Trimmed Mean		11,641542337	
		Median		11,165947449	
		Variance		386,818	
		Std. Deviation		19,667691829	
		Minimum		1,1354228740	
		Maximum		85,549717422	
		Range		84,414294548	
		Interquartile Range		6,6283081628	
		Skewness		3,084	,414
		Kurtosis		9,509	,809
	HFF1 LG	Mean		5,1799862284	,91199935266

Descriptives

Linha_Condição				Statistic	Std. Error
Captação 120 min (%)	HFF1 LG	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2,9484042041	
			Upper Bound	7,4115682526	
		5% Trimmed Mean		5,0759746414	
		Median		4,2250355831	
		Variance		5,822	
		Std. Deviation		2,4129234830	
		Minimum		2,9036399335	
		Maximum		9,3285410880	
		Range		6,4249011545	
		Interquartile Range		4,2431962549	
		Skewness		,959	,794
		Kurtosis		-,295	1,587

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov [a]			Shapiro-Wilk
	Linha_Condição	Statistic	df	Sig.	Statistic
Captação 120 min (%)	MCF7 HG	,268	48	,000	,819
	HCC1806 HG	,137	44	,036	,940
	HCC1954 HG	,230	19	,009	,851
	HFF1 HG	,277	6	,168	,823
	MCF7 LG	,311	53	,000	,758
	HCC1806 LG	,199	29	,005	,862
	HCC1954 LG	,386	32	,000	,557
	HFF1 LG	,225	7	,200*	,888

Tests of Normality

		Shapiro-Wilk	
	Linha_Condição	df	Sig.
Captação 120 min (%)	MCF7 HG	48	,000
	HCC1806 HG	44	,024
	HCC1954 HG	19	,007
	HFF1 HG	6	,093
	MCF7 LG	53	,000
	HCC1806 LG	29	,001
	HCC1954 LG	32	,000
	HFF1 LG	7	,266

a. Lilliefors Significance Correction
*. This is a lower bound of the true significance.

Case Processing Summary

		Cases		
		Valid		Missing
	Linha_Condição	N	Percent	N
Captação 150 min (%)	MCF7 HG	48	88,9%	6
	HCC1806 HG	42	58,3%	30
	HCC1954 HG	15	57,7%	11
	HFF1 HG	4	50,0%	4
	MCF7 LG	49	79,0%	13
	HCC1806 LG	29	90,6%	3
	HCC1954 LG	30	93,8%	2
	HFF1 LG	4	44,4%	5

Case Processing Summary

		Cases		
		Missing	Total	
	Linha_Condição	Percent	N	Percent
Captação 150 min (%)	MCF7 HG	11,1%	54	100,0%
	HCC1806 HG	41,7%	72	100,0%
	HCC1954 HG	42,3%	26	100,0%
	HFF1 HG	50,0%	8	100,0%
	MCF7 LG	21,0%	62	100,0%
	HCC1806 LG	9,4%	32	100,0%
	HCC1954 LG	6,3%	32	100,0%
	HFF1 LG	55,6%	9	100,0%

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic
Captação 150 min (%)	MCF7 HG	Mean		2,1194480548
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,7647744372
			Upper Bound	2,4741216724
		5% Trimmed Mean		1,9813276686
		Median		1,8953980650
		Variance		1,492
		Std. Deviation		1,2214551958
		Minimum		,61257657207
		Maximum		6,1616577466
		Range		5,5490811746
		Interquartile Range		1,3217934520
		Skewness		1,890
		Kurtosis		4,339
	HCC1806 HG	Mean		1,6579701073
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,3502486256
			Upper Bound	1,9656915890
		5% Trimmed Mean		1,6500018869
		Median		1,4674315135
		Variance		,975
		Std. Deviation		,98748337341
		Minimum		,09095977230
		Maximum		3,3481317055
		Range		3,2571719332
		Interquartile Range		1,7245787396
		Skewness		,162
		Kurtosis		-1,277
	HCC1954 HG	Mean		2,5477075312
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,3859404392
			Upper Bound	3,7094746231
		5% Trimmed Mean		2,3836347543
		Median		1,8201523700
		Variance		4,401
		Std. Deviation		2,0978797679
		Minimum		,46582910690
		Maximum		7,5828959389
		Range		7,1170668320
		Interquartile Range		2,7584066105
		Skewness		1,250
		Kurtosis		1,101
	HFF1 HG	Mean		1,5979175234
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,1899544172
			Upper Bound	2,0058806296

Descriptives

	Linha_Condição			Std. Error
Captação 150 min (%)	MCF7 HG	Mean		,17630187152
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	
			Upper Bound	
		5% Trimmed Mean		
		Median		
		Variance		
		Std. Deviation		
		Minimum		
		Maximum		
		Range		
		Interquartile Range		
		Skewness		,343
		Kurtosis		,674
	HCC1806 HG	Mean		,15237199255
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	
			Upper Bound	
		5% Trimmed Mean		
		Median		
		Variance		
		Std. Deviation		
		Minimum		
		Maximum		
		Range		
		Interquartile Range		
		Skewness		,365
		Kurtosis		,717
	HCC1954 HG	Mean		,54167022691
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	
			Upper Bound	
		5% Trimmed Mean		
		Median		
		Variance		
		Std. Deviation		
		Minimum		
		Maximum		
		Range		
		Interquartile Range		
		Skewness		,580
		Kurtosis		1,121
	HFF1 HG	Mean		,12819166988
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	
			Upper Bound	

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic
Captação 150 min (%)	HFF1 HG	5% Trimmed Mean		1,5927562127
		Median		1,5514657270
		Variance		,066
		Std. Deviation		,25638333976
		Minimum		1,3645723308
		Maximum		1,9241663087
		Range		,55959397785
		Interquartile Range		,48293457647
		Skewness		,687
		Kurtosis		-1,751
	MCF7 LG	Mean		15,197292734
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	11,142694733
			Upper Bound	19,251890735
		5% Trimmed Mean		13,572681597
		Median		8,9035274118
		Variance		199,262
		Std. Deviation		14,116032710
		Minimum		,95310622196
		Maximum		61,319627061
		Range		60,366520839
		Interquartile Range		16,156224982
		Skewness		1,753
		Kurtosis		2,955
	HCC1806 LG	Mean		1,7205897814
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,2531632039
			Upper Bound	2,1880163590
		5% Trimmed Mean		1,6516214937
		Median		1,0273754068
		Variance		1,510
		Std. Deviation		1,2288422081
		Minimum		,39294168055
		Maximum		4,2725722115
		Range		3,8796305309
		Interquartile Range		1,8605654815
		Skewness		,900
		Kurtosis		-,631

Descriptives

	Linha_Condição			Std. Error
Captação 150 min (%)	HFF1 HG	5% Trimmed Mean		
		Median		
		Variance		
		Std. Deviation		
		Minimum		
		Maximum		
		Range		
		Interquartile Range		
		Skewness		1,014
		Kurtosis		2,619
	MCF7 LG	Mean		2,0165761015
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	
			Upper Bound	
		5% Trimmed Mean		
		Median		
		Variance		
		Std. Deviation		
		Minimum		
		Maximum		
		Range		
		Interquartile Range		
		Skewness		,340
		Kurtosis		,668
	HCC1806 LG	Mean		,22819026941
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	
			Upper Bound	
		5% Trimmed Mean		
		Median		
		Variance		
		Std. Deviation		
		Minimum		
		Maximum		
		Range		
		Interquartile Range		
		Skewness		,434
		Kurtosis		,845

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic
Captação 150 min (%)	HCC1954 LG	Mean		15,286750363
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	7,9540570228
			Upper Bound	22,619443704
		5% Trimmed Mean		12,298330003
		Median		11,726407113
		Variance		385,624
		Std. Deviation		19,637313421
		Minimum		1,0970103649
		Maximum		83,315264527
		Range		82,218254162
		Interquartile Range		9,5645447098
		Skewness		2,967
		Kurtosis		8,900
	HFF1 LG	Mean		5,3489674518
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,92090022651
			Upper Bound	9,7770346772
		5% Trimmed Mean		5,3559425244
		Median		5,4117431049
		Variance		7,744
		Std. Deviation		2,7828071870
		Minimum		2,7345533009
		Maximum		7,8378302966
		Range		5,1032769956
		Interquartile Range		4,9563159277
		Skewness		-,016
		Kurtosis		-5,869

Descriptives

	Linha_Condição			Std. Error
Captação 150 min (%)	HCC1954 LG	Mean		3,5852665098
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	
			Upper Bound	
		5% Trimmed Mean		
		Median		
		Variance		
		Std. Deviation		
		Minimum		
		Maximum		
		Range		
		Interquartile Range		
		Skewness		,427
		Kurtosis		,833
	HFF1 LG	Mean		1,3914035935
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	
			Upper Bound	
		5% Trimmed Mean		
		Median		
		Variance		
		Std. Deviation		
		Minimum		
		Maximum		
		Range		
		Interquartile Range		
		Skewness		1,014
		Kurtosis		2,619

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk
	Linha_Condição	Statistic	df	Sig.	Statistic
Captação 150 min (%)	MCF7 HG	,147	48	,011	,812
	HCC1806 HG	,131	42	,066	,939
	HCC1954 HG	,186	15	,174	,867
	HFF1 HG	,250	4	.	,923
	MCF7 LG	,247	49	,000	,781
	HCC1806 LG	,231	29	,000	,837
	HCC1954 LG	,304	30	,000	,591
	HFF1 LG	,298	4	.	,781

Tests of Normality

		Shapiro-Wilk	
	Linha_Condição	df	Sig.
Captação 150 min (%)	MCF7 HG	48	,000
	HCC1806 HG	42	,026
	HCC1954 HG	15	,031
	HFF1 HG	4	,555
	MCF7 LG	49	,000
	HCC1806 LG	29	,000
	HCC1954 LG	30	,000
	HFF1 LG	4	,072

a. Lilliefors Significance Correction

Linha_Condição

Case Processing Summary

		Cases		
		Valid		Missing
	Linha_Condição	N	Percent	N
Captação 180 min (%)	MCF7 HG	51	94,4%	3
	HCC1806 HG	38	52,8%	34
	HCC1954 HG	17	65,4%	9
	MCF7 LG	46	74,2%	16
	HCC1806 LG	28	87,5%	4
	HCC1954 LG	31	96,9%	1
	HFF1 LG	6	66,7%	3

Case Processing Summary

		Cases		
		Missing	Total	
	Linha_Condição	Percent	N	Percent
Captação 180 min (%)	MCF7 HG	5,6%	54	100,0%
	HCC1806 HG	47,2%	72	100,0%
	HCC1954 HG	34,6%	26	100,0%
	MCF7 LG	25,8%	62	100,0%
	HCC1806 LG	12,5%	32	100,0%
	HCC1954 LG	3,1%	32	100,0%
	HFF1 LG	33,3%	9	100,0%

Descriptives [a]

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 180 min (%)	MCF7 HG	Mean		2,0599527783	,20920123170
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,6397597381	
			Upper Bound	2,4801458185	
		5% Trimmed Mean		1,9327602699	
		Median		1,6470998344	
		Variance		2,232	
		Std. Deviation		1,4939956233	
		Minimum		,07428730020	
		Maximum		6,4746471762	
		Range		6,4003598760	
		Interquartile Range		1,4703734992	
		Skewness		1,319	,333
		Kurtosis		1,665	,656
	HCC1806 HG	Mean		1,3958749620	,15451855585
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,0827906288	
			Upper Bound	1,7089592953	
		5% Trimmed Mean		1,3458850039	
		Median		1,1856126709	
		Variance		,907	
		Std. Deviation		,95251634941	
		Minimum		,25070943187	
		Maximum		3,5925075436	
		Range		3,3417981118	
		Interquartile Range		1,3053317131	
		Skewness		,728	,383
		Kurtosis		-,493	,750
	HCC1954 HG	Mean		3,8552745982	,91556795741
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,9143572334	
			Upper Bound	5,7961919629	
		5% Trimmed Mean		3,6923008172	
		Median		1,3316316701	
		Variance		14,250	
		Std. Deviation		3,7749833958	
		Minimum		,42584533248	
		Maximum		10,218231921	
		Range		9,7923865889	
		Interquartile Range		7,0119680183	
		Skewness		,726	,550
		Kurtosis		-1,385	1,063
	MCF7 LG	Mean		13,927208563	1,9304862338
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	10,039009698	
			Upper Bound	17,815407429	

Descriptives[a]

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 180 min (%)	MCF7 LG	5% Trimmed Mean		12,113613735	
		Median		10,413478820	
		Variance		171,432	
		Std. Deviation		13,093194665	
		Minimum		,96809139680	
		Maximum		64,042711696	
		Range		63,074620299	
		Interquartile Range		10,014893196	
		Skewness		2,529	,350
		Kurtosis		7,453	,688
	HCC1806 LG	Mean		1,6603073377	,21991804675
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,2090727782	
			Upper Bound	2,1115418971	
		5% Trimmed Mean		1,6059793892	
		Median		1,1767583506	
		Variance		1,354	
		Std. Deviation		1,1636969210	
		Minimum		,53915722690	
		Maximum		3,7671380995	
		Range		3,2279808726	
		Interquartile Range		2,1813726025	
		Skewness		,853	,441
		Kurtosis		-,941	,858
	HCC1954 LG	Mean		15,482957075	3,2309020878
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	8,8845747326	
			Upper Bound	22,081339418	
		5% Trimmed Mean		12,833763786	
		Median		14,062500000	
		Variance		323,601	
		Std. Deviation		17,988901504	
		Minimum		,95637463241	
		Maximum		77,681473456	
		Range		76,725098823	
		Interquartile Range		13,589183852	
		Skewness		2,794	,421
		Kurtosis		8,332	,821
	HFF1 LG	Mean		5,8167776234	,70155558585
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	4,0133715777	
			Upper Bound	7,6201836691	
		5% Trimmed Mean		5,8369347411	
		Median		6,0676221204	
		Variance		2,953	
		Std. Deviation		1,7184532115	
		Minimum		3,3863202345	
		Maximum		7,8844068937	
		Range		4,4980866591	
		Interquartile Range		3,1689571832	
		Skewness		-,338	,845
		Kurtosis		-1,375	1,741

a. There are no valid cases for Captação 180 min (%) when Linha_Condição = 4,000. Statistics cannot be computed for this level.

Tests of Normality[b]

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk
	Linha_Condição	Statistic	df	Sig.	Statistic
Captação 180 min (%)	MCF7 HG	,170	51	,001	,880
	HCC1806 HG	,187	38	,002	,900
	HCC1954 HG	,278	17	,001	,778
	MCF7 LG	,215	46	,000	,725
	HCC1806 LG	,230	28	,001	,803
	HCC1954 LG	,289	31	,000	,635
	HFF1 LG	,191	6	,200*	,960

Tests of Normality[b]

		Shapiro-Wilk	
	Linha_Condição	df	Sig.
Captação 180 min (%)	MCF7 HG	51	,000
	HCC1806 HG	38	,003
	HCC1954 HG	17	,001
	MCF7 LG	46	,000
	HCC1806 LG	28	,000
	HCC1954 LG	31	,000
	HFF1 LG	6	,817

a. Lilliefors Significance Correction
*. This is a lower bound of the true significance.
b. There are no valid cases for Captação 180 min (%) when Linha_Condição = 4,000. Statistics cannot be computed for this level.

Linha_Condição

Case Processing Summary

		Cases		
		Valid		Missing
	Linha_Condição	N	Percent	N
Captação 210 min (%)	MCF7 HG	35	64,8%	19
	HCC1806 HG	34	47,2%	38
	HCC1954 HG	10	38,5%	16
	HFF1 HG	4	50,0%	4
	MCF7 LG	49	79,0%	13
	HCC1806 LG	26	81,3%	6
	HCC1954 LG	30	93,8%	2
	HFF1 LG	6	66,7%	3

Case Processing Summary

		Cases		
		Missing	Total	
	Linha_Condição	Percent	N	Percent
Captação 210 min (%)	MCF7 HG	35,2%	54	100,0%
	HCC1806 HG	52,8%	72	100,0%
	HCC1954 HG	61,5%	26	100,0%
	HFF1 HG	50,0%	8	100,0%
	MCF7 LG	21,0%	62	100,0%
	HCC1806 LG	18,8%	32	100,0%
	HCC1954 LG	6,3%	32	100,0%
	HFF1 LG	33,3%	9	100,0%

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 210 min (%)	MCF7 HG	Mean		2,18683267	,135169742
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,91213471	
			Upper Bound	2,46153064	
		5% Trimmed Mean		2,13353712	
		Median		1,93669113	
		Variance		,639	
		Std. Deviation		,799674979	
		Minimum		,842341	
		Maximum		5,257450	
		Range		4,415109	
		Interquartile Range		,891967	
		Skewness		1,704	,398
		Kurtosis		5,318	,778
	HCC1806 HG	Mean		1,58122174	,159858904
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,25598635	
			Upper Bound	1,90645712	
		5% Trimmed Mean		1,57269659	
		Median		1,53330300	
		Variance		,869	
		Std. Deviation		,932129579	
		Minimum		,246652	
		Maximum		3,065862	
		Range		2,819209	
		Interquartile Range		1,899217	
		Skewness		,131	,403
		Kurtosis		-1,486	,788
	HCC1954 HG	Mean		3,34965748	,890902986
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,33429491	
			Upper Bound	5,36502005	
		5% Trimmed Mean		3,05197805	
		Median		1,99707261	
		Variance		7,937	
		Std. Deviation		2,817282610	
		Minimum		1,379383	
		Maximum		10,678161	
		Range		9,298778	
		Interquartile Range		2,503927	
		Skewness		2,292	,687
		Kurtosis		5,813	1,334
	HFF1 HG	Mean		1,52216479	,104723032
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,18888937	
			Upper Bound	1,85544022	

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 210 min (%)	HFF1 HG	5% Trimmed Mean		1,52428161	
		Median		1,54121618	
		Variance		,044	
		Std. Deviation		,209446064	
		Minimum		1,264158	
		Maximum		1,742068	
		Range		,477910	
		Interquartile Range		,403087	
		Skewness		-,407	1,014
		Kurtosis		-1,493	2,619
	MCF7 LG	Mean		19,73848611	2,401233472
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	14,91048263	
			Upper Bound	24,56648959	
		5% Trimmed Mean		18,92957702	
		Median		12,08894752	
		Variance		282,530	
		Std. Deviation		16,808634301	
		Minimum		1,064509	
		Maximum		53,915767	
		Range		52,851259	
		Interquartile Range		23,327120	
		Skewness		1,034	,340
		Kurtosis		-,455	,668
	HCC1806 LG	Mean		1,63559149	,283880864
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,05092791	
			Upper Bound	2,22025507	
		5% Trimmed Mean		1,53091867	
		Median		1,04464701	
		Variance		2,095	
		Std. Deviation		1,447514065	
		Minimum		,533626	
		Maximum		4,616871	
		Range		4,083245	
		Interquartile Range		1,104939	
		Skewness		1,374	,456
		Kurtosis		,162	,887
	HCC1954 LG	Mean		15,00414547	3,195156992
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	8,46931568	
			Upper Bound	21,53897526	
		5% Trimmed Mean		12,50319095	
		Median		14,09654387	
		Variance		306,271	
		Std. Deviation		17,500595594	
		Minimum		,963977	
		Maximum		74,131080	
		Range		73,167103	
		Interquartile Range		14,292775	

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 210 min (%)	HCC1954 LG	Skewness		2,686	,427
		Kurtosis		7,740	,833
	HFF1 LG	Mean		7,61285210	,904314411
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	5,28823790	
			Upper Bound	9,93746630	
		5% Trimmed Mean		7,55209293	
		Median		6,91725129	
		Variance		4,907	
		Std. Deviation		2,215108875	
		Minimum		5,303383	
		Maximum		11,015986	
		Range		5,712603	
		Interquartile Range		3,938808	
		Skewness		,741	,845
		Kurtosis		-,932	1,741

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov [a]			Shapiro-Wilk
	Linha_Condição	Statistic	df	Sig.	Statistic
Captação 210 min (%)	MCF7 HG	,155	35	,032	,867
	HCC1806 HG	,154	34	,040	,911
	HCC1954 HG	,282	10	,023	,690
	HFF1 HG	,198	4	.	,975
	MCF7 LG	,276	49	,000	,796
	HCC1806 LG	,344	26	,000	,686
	HCC1954 LG	,275	30	,000	,647
	HFF1 LG	,237	6	,200*	,915

Tests of Normality

		Shapiro-Wilk	
	Linha_Condição	df	Sig.
Captação 210 min (%)	MCF7 HG	35	,001
	HCC1806 HG	34	,009
	HCC1954 HG	10	,001
	HFF1 HG	4	,871
	MCF7 LG	49	,000
	HCC1806 LG	26	,000
	HCC1954 LG	30	,000
	HFF1 LG	6	,470

a. Lilliefors Significance Correction
*. This is a lower bound of the true significance.

Linha_Condição

Case Processing Summary

		Cases		
		Valid		Missing
	Linha_Condição	N	Percent	N
Captação 240 min (%)	MCF7 HG	30	55,6%	24
	HCC1806 HG	33	45,8%	39
	HCC1954 HG	14	53,8%	12
	HFF1 HG	4	50,0%	4
	MCF7 LG	36	58,1%	26
	HCC1806 LG	23	71,9%	9
	HCC1954 LG	31	96,9%	1
	HFF1 LG	2	22,2%	7

Case Processing Summary

		Cases		
		Missing	Total	
	Linha_Condição	Percent	N	Percent
Captação 240 min (%)	MCF7 HG	44,4%	54	100,0%
	HCC1806 HG	54,2%	72	100,0%
	HCC1954 HG	46,2%	26	100,0%
	HFF1 HG	50,0%	8	100,0%
	MCF7 LG	41,9%	62	100,0%
	HCC1806 LG	28,1%	32	100,0%
	HCC1954 LG	3,1%	32	100,0%
	HFF1 LG	77,8%	9	100,0%

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 240 min (%)	MCF7 HG	Mean		1,974832356	,1983820468
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,569095514	
			Upper Bound	2,380569199	
		5% Trimmed Mean		1,979993773	
		Median		2,237239902	
		Variance		1,181	
		Std. Deviation		1,0865832202	
		Minimum		,1553327	
		Maximum		3,7754192	
		Range		3,6200865	
		Interquartile Range		1,9411927	
		Skewness		-,273	,427
		Kurtosis		-1,054	,833
	HCC1806 HG	Mean		1,365338903	,1638804422
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,031525366	
			Upper Bound	1,699152440	
		5% Trimmed Mean		1,352500565	
		Median		1,328688547	
		Variance		,886	
		Std. Deviation		,9414214669	
		Minimum		,1516708	
		Maximum		2,8029452	
		Range		2,6512744	
		Interquartile Range		2,0054099	
		Skewness		,198	,409
		Kurtosis		-1,563	,798
	HCC1954 HG	Mean		6,093182239	1,3695905954
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,134361645	
			Upper Bound	9,052002833	
		5% Trimmed Mean		5,804666671	
		Median		4,176655434	
		Variance		26,261	
		Std. Deviation		5,1245387680	
		Minimum		1,6187751	
		Maximum		15,7608696	
		Range		14,1420944	
		Interquartile Range		7,5297080	
		Skewness		,878	,597
		Kurtosis		-,374	1,154
	HFF1 HG	Mean		1,082300419	,1350911292
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,652380154	
			Upper Bound	1,512220683	

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 240 min (%)	HFF1 HG	5% Trimmed Mean		1,083302213	
		Median		1,091316566	
		Variance		,073	
		Std. Deviation		,2701822583	
		Minimum		,8285337	
		Maximum		1,3180348	
		Range		,4895011	
		Interquartile Range		,4782927	
		Skewness		-,019	1,014
		Kurtosis		-5,887	2,619
	MCF7 LG	Mean		19,895132028	2,8550763961
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	14,099018800	
			Upper Bound	25,691245255	
		5% Trimmed Mean		18,831032301	
		Median		12,673878802	
		Variance		293,453	
		Std. Deviation		17,130458376	
		Minimum		,4411803	
		Maximum		58,3084516	
		Range		57,8672713	
		Interquartile Range		23,6445916	
		Skewness		1,106	,393
		Kurtosis		,107	,768
	HCC1806 LG	Mean		1,365827355	,2533853360
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,840338331	
			Upper Bound	1,891316379	
		5% Trimmed Mean		1,204289609	
		Median		,935340785	
		Variance		1,477	
		Std. Deviation		1,2151933818	
		Minimum		,5220257	
		Maximum		5,2259358	
		Range		4,7039100	
		Interquartile Range		,5260511	
		Skewness		2,386	,481
		Kurtosis		5,068	,935

Descriptives

	Linha_Condição			Statistic	Std. Error
Captação 240 min (%)	HCC1954 LG	Mean		15,971756017	2,6932496554
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	10,471406428	
			Upper Bound	21,472105606	
		5% Trimmed Mean		14,087150987	
		Median		14,383430043	
		Variance		224,861	
		Std. Deviation		14,995379451	
		Minimum		,9907591	
		Maximum		65,4917567	
		Range		64,5009975	
		Interquartile Range		12,7108787	
		Skewness		2,226	,421
		Kurtosis		5,962	,821
	HFF1 LG	Mean		7,643889461	,1697245972
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	5,487333981	
			Upper Bound	9,800444942	
		5% Trimmed Mean		.	
		Median		7,643889461	
		Variance		,058	
		Std. Deviation		,2400268272	
		Minimum		7,4741649	
		Maximum		7,8136141	
		Range		,3394492	
		Interquartile Range		.	
		Skewness		.	.
		Kurtosis		.	.

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk
	Linha_Condição	Statistic	df	Sig.	Statistic
Captação 240 min (%)	MCF7 HG	,156	30	,061	,938
	HCC1806 HG	,170	33	,016	,884
	HCC1954 HG	,243	14	,024	,816
	HFF1 HG	,304	4	.	,769
	MCF7 LG	,230	36	,000	,847
	HCC1806 LG	,307	23	,000	,626
	HCC1954 LG	,244	31	,000	,742
	HFF1 LG	,260	2	.	

Tests of Normality

		Shapiro-Wilk	
	Linha_Condição	df	Sig.
Captação 240 min (%)	MCF7 HG	30	,082
	HCC1806 HG	33	,002
	HCC1954 HG	14	,008
	HFF1 HG	4	,057
	MCF7 LG	36	,000
	HCC1806 LG	23	,000
	HCC1954 LG	31	,000
	HFF1 LG		

a. Lilliefors Significance Correction

Anexo 2. Análise descritiva dos resultados relativos à expressão de transportadores de glicose, quantificados por citometria de fluxo (resultados apresentados em intensidade média de fluorescência)

GLUT1 (M)

Estatísticas	MCF-7 HG	HCC1806 HG	HCC1954 HG	MCF-7 LG	HCC1806 LG	HCC1954 LG
Média	21,400	60,320	42,000	29,000	19,333	281,400
Mediana	16,900	57,100	33,000	29,000	18,000	199,000
Variância	121,083	1006,672	431,333	8,500	10,333	18856,300
Desvio-padrão	11,0038	31,7281	20,7686	2,9155	3,2146	137,3182
Mínimo	8,0	24,7	29,0	25,0	17,0	169,0
Máximo	38,0	110,7	73,0	33,0	23,0	456,0
Amplitude	30,0	86,0	44,0	8,0	6,0	287,0

GLUT1 (C)

Estatísticas	MCF-7 HG	HCC1806 HG	HCC1954 HG	MCF-7 LG	HCC1806 LG	HCC1954 LG
Média	67,80	181,00	234,56	85,14	338,75	139,40
Mediana	66,50	267,00	92,00	75,00	338,50	66,00
Variância	871,733	22533,000	97495,068	407,143	2629,583	12283,300
Desvio-padrão	29,525	150,110	312,242	20,178	51,279	110,830
Mínimo	37	17	76	69	291	61
Máximo	141	360	792	115	387	307
Amplitude	104	343	716	46	96	246

GLUT3 (M)

Estatísticas	MCF-7 HG	HCC1806 HG	HCC1954 HG	MCF-7 LG	HCC1806 LG	HCC1954 LG
Média	32,157	27,425	33,250	29,400	17,000	37,000
Mediana	24,000	21,000	26,000	31,000	16,000	25,000
Variância	505,846	257,379	431,583	34,300	10,000	317,500
Desvio-padrão	22,4910	16,0430	20,7746	5,8566	3,1623	17,8185
Mínimo	8,2	14,0	18,0	20,0	14,0	23,0
Máximo	63,0	61,5	63,0	35,0	22,0	57,0
Amplitude	54,8	47,5	45,0	15,0	8,0	34,0

GLUT3 (C)

Estatísticas	MCF-7 HG	HCC1806 HG	HCC1954 HG	MCF-7 LG	HCC1806 LG	HCC1954 LG
Média	155,40	33,50	547,05	64,00	52,33	45,25
Mediana	129,00	35,00	176,00	60,00	52,00	43,50
Variância	8621,300	101,667	454531,375	87,500	,333	154,250
Desvio-padrão	92,851	10,083	674,189	9,354	,577	12,420
Mínimo	45	20	45	56	52	34
Máximo	257	44	1491	78	53	60

Amplitude	212	24	1446	22	1	26

GLUT5 (M)

Estatísticas	MCF-7 HG	HCC1806 HG	HCC1954 HG	MCF-7 LG	HCC1806 LG	HCC1954 LG
Média	36,17	17,00	27,75	21,50	21,00	29,00
Mediana	25,50	14,00	27,00	21,50	21,00	29,00
Variância	578,967	48,500	128,917	,500	18,000	4,000
Desvio-padrão	24,062	6,964	11,354	,707	4,243	2,000
Mínimo	17	11	16	21	18	27
Máximo	79	25	41	22	24	31
Amplitude	62	14	25	1	6	4

GLUT5 (C)

Estatísticas	MCF-7 HG	HCC1806 HG	HCC1954 HG	MCF-7 LG	HCC1806 LG	HCC1954 LG
Média	249,83	73,80	190,25	1095,00	130,00	978,33
Mediana	265,00	53,00	184,00	1713,00	130,00	973,00
Variância	2566,167	2056,700	21732,917	773170,000	1800,000	277,333
Desvio-padrão	50,657	45,351	147,421	879,301	42,426	16,653
Mínimo	166	34	61	115	100	965
Máximo	297	130	332	1751	160	997
Amplitude	131	96	271	1636	60	32

GLUT12 (M)

Estatísticas	MCF-7 HG	HCC1806 HG	HCC1954 HG	MCF-7 LG	HCC1806 LG	HCC1954 LG
Média	36,50	47,50	64,17	316,67	53,44	
Mediana	36,00	39,50	67,50	271,00	38,00	
Variância	11,667	439,500	216,567	12694,333	1402,278	
Desvio-padrão	3,416	20,964	14,716	112,669	37,447	
Mínimo	33	33	36	234	12	
Máximo	41	89	79	445	94	
Amplitude	8	56	43	211	82	

GLUT12 (C)

Estatísticas	MCF-7 HG	HCC1806 HG	HCC1954 HG	MCF-7 LG	HCC1806 LG	HCC1954 LG
Média	268,50	365,50	675,00	199,33	404,50	
Mediana	268,50	365,50	675,00	199,00	404,50	
Variância	44104,500	612,500	3698,000	6,333	1104,500	
Desvio-padrão	210,011	24,749	60,811	2,517	33,234	

Mínimo	120	348	632	197	381	
Máximo	417	383	718	202	428	
Amplitude	297	35	86	5	47	

Anexo 3. Análise descritiva dos resultados relativos à expressão de receptores hormonais e génicos, quantificados por citometria de fluxo (resultados apresentados em intensidade média de fluorescência)

RE

Estatísticas	MCF-7 HG	HCC1806 HG	HCC1954 HG	MCF-7 LG	HCC1806 LG	HCC1954 LG
Média	13,00	48,75	26,00	20,60	36,80	20,29
Mediana	14,00	41,00	19,00	20,00	46,00	17,00
Variância	9,714	1275,071	246,000	30,800	307,700	222,905
Desvio-padrão	3,117	35,708	15,684	5,550	17,541	14,930
Mínimo	8	17	13	12	10	10
Máximo	16	123	50	26	51	53
Amplitude	8	106	37	14	41	43

RP

Estatísticas	MCF-7 HG	HCC1806 HG	HCC1954 HG	MCF-7 LG	HCC1806 LG	HCC1954 LG
Média	18,44	9,22	18,50	16,57	11,80	11,43
Mediana	8,00	8,00	10,00	7,00	11,00	13,00
Variância	305,528	18,694	244,300	278,952	14,700	10,952
Desvio-padrão	17,479	4,324	15,630	16,702	3,834	3,309
Mínimo	6	5	7	6	7	6
Máximo	44	17	41	42	17	15
Amplitude	38	12	34	36	10	9

HER2

Estatísticas	MCF-7 HG	HCC1806 HG	HCC1954 HG	MCF-7 LG	HCC1806 LG	HCC1954 LG
Média	285,00	256,38	1821,17	253,67	218,80	2128,00
Mediana	254,50	260,00	1684,00	275,00	195,00	2617,00
Variância	3493,600	18157,411	1046316,967	1430,333	3244,700	1534651,333
Desvio-padrão	59,107	134,749	1022,896	37,820	56,962	1238,810
Mínimo	236	108	637	210	155	353
Máximo	363	415	3250	276	282	3376
Amplitude	127	307	2613	66	127	3023

Anexo 4. Análise descritiva dos resultados relativos à expressão de KI-67, quantificada por citometria de fluxo (resultados apresentados em intensidade média de fluorescência)

Estatísticas	MCF-7 HG	HCC1806 HG	HCC1958 HG	MCF-7 LG	HCC1806 LG	HCC1958 LG
Média	17,33	24,27	14,60	22,83	21,55	21,25
Mediana	17,00	23,00	11,00	26,50	18,00	21,50
Variância	14,267	24,418	29,300	98,967	53,473	82,250
Desvio-padrão	3,777	4,941	5,413	9,948	7,313	9,069
Mínimo	13	19	10	10	16	12
Máximo	24	34	21	32	36	30
Amplitude	11	15	11	22	20	18

Anexo 5. Resultados relativos aos relatórios médicos dos estudos PET/CT, biópsias e análise histológica e classificação TNM final para cada doente, efectuados em contexto de avaliação de tumores primitivos ou recidiva local de cancro da mama.

CASO	DATA_EXAM	INF_CLINICA	DESCR_TECNICA	RELATORIO	CONCLUSAO
1	26/05/2009	Doente de 81 anos com carcinoma da mama esquerda. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se área de intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 que corresponde, nas imagens anatómicas, a volumosa lesão na mama esquerda, compatível com a neoplasia maligna mamária conhecida. Visualiza-se intensa hipercaptação anómala do radiofármaco ao longo da coluna vertebral cervico-dorso-lombar, nos ossos da bacia, no esterno, na grelha costal, nas omoplatas, nas clavículas e na porção proximal dos fémures. No contexto clínico,	Estudo compatível com neoplasia maligna da mama esquerda e extenso envolvimento ósseo secundário, levantando, ainda, a suspeita de metastização pulmonar bilateral.
2	04/06/2009	Doente de 72 anos com carcinoma da mama multifocal e multicêntrico, com adenopatias cervicais bilaterais. Vai iniciar quimioterapia neoadjuvante. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 8 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observam-se, na mama direita, duas lesões vagamente nodulares, uma com cerca de 16 mm e outra com aproximadamente 25 mm de eixo axial que apresentam, nas imagens funcionais, intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18. Estes aspectos anatomo-funcionais traduzem lesões hipermetabólicas compatíveis com lesões neoplásicas malignas, de acordo com a informação clínica de carcinoma da mama multifocal. No restante estudo existe um padrão de	Estudo compatível com neoplasia multifocal da mama direita, sem individualização de alterações hipermetabólicas suspeitas de lesões secundárias.
3	25/05/2009	Doente de 42 anos com carcinoma da mama esquerda. Estudo pedido para estadiamento inicial.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 10 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, uma lesão vagamente nodular, de contornos irregulares, medindo cerca de 17 mm de eixo axial, que apresenta, nas imagens funcionais, hiperacumulação anómala de FDG-F18. Este aspecto anatomo-funcional traduz lesão hipermetabólica compatível com o carcinoma da mama conhecido. Sugerindo envolvimento ganglionar secundário homolateral ao tumor, visualiza-se hipercaptação	Estudo compatível com neoplasia maligna da mama esquerda com envolvimento ganglionar secundário da axila homolateral e metastização pulmonar, hepática e óssea.
4	30/06/2009	Doente de 89 anos operada a carcinoma da mama esquerda há 5 anos. Internada em Abril de 2009 por derrame pleural extenso. Antecedentes de várias cirurgias a hérnias abdominais, a última na linha média em Dezembro de 2008.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 8 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama direita, uma pequena lesão nodular com cerca de 7 mm que apresenta, nas imagens funcionais, captação aumentada de FDG-F18. Este aspecto anatomo-funcional traduz a presença, a este nível, de uma lesão hipermetabólica que levanta a suspeita de lesão neoplásica maligna a justificar estudo complementar para o seu esclarecimento. Visualiza-se captação aumentada de FDG-F18 em adenopatias, axilares direitas a maior com 16 mm e	Este estudo levanta a suspeita de lesão neoplásica maligna na mama direita com envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral e pré-pericárdico e, ainda, lesão secundária no pulmão direito. Estas suspeitas carecem de investigação complementar. O aspecto descrito a nível abdominal justifica, também, apreciação clínica.
5	26/10/2005	Doente de 82 anos, insuficiente renal crónica, com hipercalcámia em estudo. O Rx da coluna lombar e a cintigrafia óssea sugerem metastização óssea. A EDA, colonoscopia e a CT toraco-abdomino-pélvica, não evidenciaram alterações compatíveis com o tumor primitivo. Vem para localização de lesão neoplásica primitiva.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 15 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões e correcção de atenuação por CT. Adquiriram-se imagens de emissão, bem como de transmissão para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcional.	Observa-se área de hiperacumulação anómala do FDG-F18 que, nas imagens anatómicas, parece corresponder a formação nodular, com cerca de 16 mm, localizada na paratiróide inferior esquerda. Esta lesão poderá corresponder a adenoma ou carcinoma da paratiróide, carecendo de estudo imagiológico complementar para o seu esclarecimento. No quadrante superior externo da mama esquerda é visível acumulação discretamente aumentada do	Este estudo sugere a presença de neoplasia da paratiróide inferior esquerda carecendo de estudo complementar para o seu esclarecimento. O aspecto descrito na mama esquerda merece, também, apreciação clínica e imagiológica.

6	09/11/2009	Doente de 83 anos com carcinoma da mama metastizado para restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 5 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Nos tecidos moles da parede anterior do hemitórax direito, na topografia da glândula mamária respectiva que se encontra ausente de acordo com o antecedente cirúrgico conhecido, observa-se uma lesão nodular. Esta lesão localiza-se ao nível da extremidade anterior do 3º arco costal e apresenta, nas imagens funcionais, hiperacumulação anómala de FDG-F18. O aspecto anatomo-funcional desta formação traduz a presença, a este nível, de uma lesão hipermetabólica compatível, neste contexto	No contexto clínico de neoplasia da mama direita tratado, este estudo é compatível com recidiva local, envolvimento ganglionar secundário supra e infra-clavicular direito e extensa metastização pulmonar bilateral. O aspecto tiroideu descrito merece apreciação clínica.
7	24/07/2009	Doente de 81 anos com carcinoma da mama esquerda. Estudo pedido para estadiamento inicial.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se hiperacumulação anómala de FDG-F18 numa massa de contornos irregulares, medindo cerca de 85 x 51 mm de eixos axiais, localizada na mama esquerda. Este aspecto anatomo-funciomal traduz lesão hipermetabólicas compatível com a neoplasia maligna mamária conhecida. Embora sem captação significativamente aumentada do radiofármaco visualizam-se, nas imagens anatómicas, três adenopatias axilares esquerdas, a maior com cerca de 26 x 11 mm de	Estudo compatível com neoplasia maligna da mama esquerda e envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral ao tumor. O aspecto descrito na tiróide merecer apreciação clínica.
8	29/05/2009	Doente de 80 anos portadora de carcinoma da mama esquerda. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observam-se, na mama esquerdas, duas lesões vagamente nodulares, pericentimétricas, praticamente adjacentes, que apresentam, nas imagens funcionais, hiperacumulação anómala de FDG-F18. Estes aspectos anatomo-funcionais traduzem lesões hipermetabólicas compatíveis com neoplasia maligna mamária conhecida. No restante estudo existe um padrão de biodistribuição de FDG-F18 dentro da normalidade, sem individualização de alterações	Estudo compatível com neoplasia maligna da mama esquerda.
9	25/01/2010	Doente de 80 anos com neoplasia da mama esquerda. Estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 11 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Visualiza-se, na mama esquerda, uma lesão vagamente nodular, de contornos irregulares medindo cerca de 4 cm de eixo axial, com intensa hipercaptação anómala de FDG-F18 compatível com a lesão neoplásica maligna conhecida. O grande peitoral homolateral apresenta-se espessado e exibe, também, intensa hipercaptação anómala de FDG-F18, aspecto anatomo-funcional sugerindo envolvimento desse músculo. Compatível com envolvimento ganglionar	Neoplasia maligna na mama esquerda com extensão ao grande peitoral, envolvimento ganglionar secundário e quadro de metastização óssea disseminada.
10	31/08/2009	Doente de 77 anos submetida a colecistectomia que revelou metástase de carcinoma da mama. Antecedentes de Doença de Hodgkin tratada há cerca de 23 anos.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 5,6 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, uma formação nodular de contornos irregulares com cerca de 20 mm de maior eixo axial e que apresenta hipercaptação anómala de FDG-F18. Este aspecto anatomo-funcional traduz lesão mamária hipermetabólica compatível, no contexto clínico, com neoplasia maligna. No lobo inferior do pulmão esquerdo, individualizam-se, nas imagens anatómicas, dois micronódulos milimétricos. Atendendo às suas reduzidas	Estudo compatível com neoplasia maligna da mama esquerda, levantando a suspeita de lesões secundárias no pulmão homolateral. O conglomerado adenopático hipermetabólico inguinal esquerdo carece de estudo complementar para o seu esclarecimento etiológico.

11	27/08/2009	Doente de 76 anos com carcinoma da mama esquerda localmente avançado. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Destaca-se, na mama esquerda, uma massa vagamente nodular, de contornos irregulares, medindo aproximadamente 60 x 47 x 38 mm, que apresenta intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18, aspecto anatomo-funcional compatível com a neoplasia maligna mamária conhecida. Sugerindo, neste contexto clínico, envolvimento ganglionar secundário, visualiza-se hipercaptação anómala em adenopatias axilares esquerdas, medindo a maior cerca de 16 mm de eixo axial, pré-	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna na mama esquerda com envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral ao tumor, mediastínico e bronco-hilar bilateral, e metastização pulmonar, óssea e cerebelosa.
12	12/05/2009	Doente de 70 anos com carcinoma da mama esquerda ulcerado. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 8 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Destaca-se, na mama esquerda, a presença de uma exuberante área de marcada hiperacumulação anómala de FDG-F18 com distribuição muito heterogénea que corresponde, nas imagens anatómicas, a uma massa de contornos irregulares medindo aproximadamente 14 x 12 cm. Este aspecto anatomo-funcional traduz lesão hipermetabólica compatível com exuberante massa neoplásica maligna, de acordo com a informação clínica de carcinoma da mama esquerda. Esta	Estudo compatível com exuberante neoplasia maligna da mama esquerda com extensão cutânea, envolvimento ganglionar secundário e, ainda, metástase óssea no esterno.
13	21/08/2009	Doente de 74 anos com carcinoma da mama localmente avançado (pT3N1). Estudo pedido para estadiamento inicial.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 4mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 numa lesão de conformação irregular com aproximadamente 55x28mm de maiores diâmetros axiais, localizada na transição do quadrante superior externo para o inferior externo da mama direita. Este aspecto traduz lesão de elevado índice metabólico, compatível com a neoplasia maligna da mama já conhecida. Adjacente a esta formação, identificam-se dois focos hipermetabólicos que relacionamos com	Este estudo sugere formação neoplásica maligna da mama direita (eventualmente multifocal) e envolvimento ganglionar secundário axilar e inter-peitoral homolaterais ao tumor.
14	21/07/2008	Doente de 73 anos. Carcinoma da mama localmente avançado/metastizado. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 10.5 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Destaca-se intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 numa lesão de contornos irregulares e espiculados, medindo cerca de 46 mm de maior diâmetro axial, localizada na mama direita. Este aspecto hipermetabólico, sugere lesão neoplásica maligna, correspondendo ao tumor primitivo conhecido. Associadamente, observa-se discreto aumento de captação do radiofármaco em locais de espessamento da pele suprajacente à lesão descrita, assim como no mamilo, levantando a	No contexto clínico de carcinoma da mama localmente avançado, este estudo evidencia o tumor primitivo com eventual extensão à pele e sugere envolvimento ganglionar secundário axilar direito, assim como metastização óssea disseminada atingindo a clavícula esquerda, a coluna, a bacia e o fémur direito. O aspecto descrito a nível da tiróide merece estudo complementar.
15	15/07/2009	Doente de 72 anos com carcinoma da mama localmente avançado para estadiamento inicial.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 7 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Visualiza-se, na mama direita, uma massa medindo cerca de 74 x 50 mm com intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 que corresponderá à neoplasia maligna mamária primitiva conhecida. Observa-se captação aumentada de FDG-F18 sugerindo envolvimento ganglionar secundário, em adenopatias axilares direitas a maior com cerca de 17 mm de eixo axial e, ainda, bronco-hilares bilaterais. Dispersas por ambos os campos pulmonares,	Estudo compatível com massa neoplásica maligna na mama direita com envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral ao tumor e bronco-hilar bilateral e, ainda, extensa metastização pulmonar.

16	24/09/2008	Doente de 71 anos. Carcinoma da mama, operado e submetido a quimioterapia. Actualmente com recidiva ganglionar cervical, com marcadores tumorais normais. Estudo pedido para restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9.5 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Destaca-se intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18, com distribuição heterogénea, numa lesão de contornos irregulares e limites imprecisos localizada na porção superior da parede anterior do hemitórax direito, imediatamente acima da região da mastectomia. Esta lesão envolve extensamente a totalidade da 1ª arco costal direito, com destruição do tecido ósseo, bem como a porção lateral e anterior do 2º arco costal homolateral, a porção medial da clavícula e a metade direita de	No contexto clínico de carcinoma da mama, este estudo sugere exuberante recidiva local, com envolvimento ganglionar secundário latero-cervical direito, axilar esquerdo, mediastínico e bronco-hilar bilateral e, ainda, metastização pulmonar e óssea disseminadas e uma metástase hepática única.
17	03/04/2009	Doente de 71 anos. Carcinoma bilateral da mama, com metastização axilar direita. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 10 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Na transição dos quadrantes superiores da mama esquerda observamos uma formação nodular com cerca de 15 mm, que apresenta hipercaptação anómala de FDG-F18, aspecto que relacionamos com neoplasia maligna primitiva da mama esquerda. Na mama direita visualiza-se, em localização retro-areolar, uma outra formação nodular, medindo aproximadamente 18 mm de maior eixo axial que apresenta, igualmente, hipercaptação aumentada	No contexto clínico de carcinoma da mama bilateral, este estudo evidencia as lesões neoplásicas malignas primitivas de ambas as mamas e sugere, ainda, envolvimento ganglionar secundário axilar direito.
18	04/01/2010	Doente de 71 anos com carcinoma da mama para restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 10 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na parede anterior do hemitórax direito, na topografia da glândula mamária, uma área de captação heterogeneamente aumentada de FDG-F18 que corresponde, nas imagens anatómicas, a um espessamento dos tecidos moles, nomeadamente do músculo grande peitoral ao nível, dos 3º e 4º arcos costais. Este aspecto anatomo-funcional levanta a suspeita, no contexto clínico, de recidiva local a merecer apreciação clínica e investigação complementar.	No contexto clínico de carcinoma da mama direita operado em 2006, este estudo levanta a suspeita de recidiva local a merecer apreciação clínica. Alterações hipermetabólicas osteoarticulares compatíveis com compromisso inflamatório/degenerativo e fracturas provavelmente osteoporóticas, não se podendo excluir a hipótese de metastização óssea.
19	22/06/2009	Doente de 68 anos portadora de carcinoma da mama esquerda com metástases axilares. Estudo pedido para estadiamento inicial.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 8 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Visualiza-se, na mama esquerda, uma lesão nodular com cerca de 45 mm de eixo axial que apresenta, nas imagens funcionais, intensa hipercaptação de FDG-F18. Este aspecto anatomo-funcional traduz lesão hipermetabólica compatível com a neoplasia maligna mamária conhecida. Sugerindo envolvimento ganglionar secundário, observa-se hiperacumulação anómala em adenopatias axilares esquerdas, medindo a maior cerca de 17 mm de maior eixo axial.	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna na mama esquerda e envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral ao tumor.
20	14/01/2008	Doente de 66 anos com suspeita de metástase cerebral direita, provavelmente secundária a neoplasia da mama. Estudo pedido para restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 7mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	No hemisfério cerebral direito, observa-se uma área de hipercaptação periférica de FDG-F18 com zona de hipometabolismo central, envolvendo extensamente o lobo frontal. Este aspecto sugere, no contexto clínico, volumosa metástase cerebral com extensa necrose central. No pulmão direito visualiza-se hipercaptação em duas formações nodulares, sugerindo envolvimento pulmonar secundário, uma no segmento superior do lobo inferior com cerca de 13mm e outra, peri-	No contexto clínico de carcinoma da mama, este estudo sugere volumosa metástase cerebral no lobo frontal direito e duas metástases pulmonares direitas.

21	12/01/2010	Doente de 67 anos com recorrência local de carcinoma da mama sob quimioterapia e terapêutica angiogénica. Avaliação de resposta à terapêutica.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 12 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Com maior intensidade de captação e aumento da extensão, comparativamente ao exame anterior de Julho de 2009, observa-se, na região de mastectomia esquerda, hiperacumulação anómala de FDG-F18 na pele da porção superior da parede antero-lateral do hemitórax esquerdo, da região axilar homolateral, estendendo-se, ainda, para a pele da região posterior do mesmo hemitórax e, ainda, envolvendo heterogeneamente os músculos grande-peitoral, pequeno-peitoral, infra-espinhoso e	Ausência de resposta à terapêutica e doença loco-regional com envolvimento cutâneo e muscular em progressão em relação ao exame de Julho de 2009.
22	20/03/2009	Doente de 66 anos com carcinoma da mama localmente avançado. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 6 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, uma área heterogénea de hiperacumulação anómala de FDG-F18, compatível com a informação clínica de neoplasia maligna a esse nível. Sugerindo envolvimento ganglionar secundário, visualiza-se hipercaptação anómala em adenopatias peri-centimétricas axilares esquerdas. No restante estudo existe um padrão de biodistribuição do radiofármaco dentro da normalidade, sem alterações hipermetabólicas	Estudo compatível com neoplasia maligna da mama esquerda e envolvimento ganglionar secundário axilar homolateral ao tumor.
23	22/09/2009	Doente de 66 anos com carcinoma da mama direita e adenopatia axilar com 4 cm.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 12 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama direita, uma formação vagamente nodular, de contornos irregulares, medindo cerca de 25 mm de maior eixo axial, que apresenta, nas imagens funcionais, captação aumentada de FDG-F18. Este aspecto anatomo-funcional traduz lesão mamária hipermetabólica compatível com o carcinoma conhecido. Sugerindo, neste contexto clínico, envolvimento ganglionar secundário, observa-se hiperacumulação anómala de FDG-F18 em	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna na mama direita e envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral ao tumor.
24	15/06/2009	Doente de 65 anos com carcinoma da mama direita submetida a tumorectomia e a gânglio sentinela em Janeiro de 2008 seguida de radioterapia e quimioterapia. Estudo pedido para restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9,4 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama direita, uma área de espessamento dos tecidos moles que apresenta, nas imagens funcionais, hipercaptação anómala de FDG-F18. No contexto clínico de carcinoma dessa mama operado há cerca de 1 ano e meio, este aspecto anatomo-funcional, traduzindo envolvimento hipermetabólico, levanta a suspeita de recidiva local. Visualiza-se, na axila esquerda, hiperacumulação anómala de FDG-F18 em adenopatias medindo a	No contexto clínico de carcinoma da mama direita operado, este estudo é compatível com recidiva local, envolvimento ganglionar secundário na axila contra-lateral e, ainda, lesões ósseas secundárias no úmero esquerdo e na grelha costal à direita.
25	05/08/2009	Doente de 65 anos com formação tumoral da mama direita com cerca de 5 cm. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 6 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama direita, intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 numa massa de contornos muito irregulares, medindo cerca de 76 x 40 x 35 mm. Este aspecto anatomo-funcional traduz lesão hipermetabólica compatível com a neoplasia maligna mamária conhecida. Visualiza-se hipercaptação anómala de FDG-F18 em adenopatias peri-centimétricas na axila direita compatível, no contexto clínico, com envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral ao	Estudo compatível com neoplasia maligna da mama direita e envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral ao tumor. O aspecto descrito na mama contralateral merece apreciação clínica.

26	26/03/2009	Doente de 65 anos. Carcinoma da mama (T3N1), com biópsia de gânglio axilar com aspectos compatíveis com metástases de carcinoma. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 10 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se uma lesão vagamente nodular com cerca de 2 cm de eixo axial na mama esquerda, que apresenta hiperacumulação anómala de FDG-F18, compatível com lesão neoplásica maligna. No restante estudo existe um padrão de biodistribuição de FDG-F18 dentro da normalidade, sem individualização de outras alterações hipermetabólicas, nomeadamente a nível axilar.	No contexto clínico de carcinoma da mama, este estudo evidencia o tumor primitivo na mama esquerda e não identifica alterações suspeitas de lesões secundárias.
27	19/03/2010	Doente de 66 anos com polineuropatia de provável causa para-neoplásica. Tem carcinoma da mama com adenopatias axilares. Estadiamento do cancro da mama.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 13 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais. Procedeu-se secundariamente à administração i.v. de contraste iodado com aquisição de cortes para	Observamos um nódulo com 16 mm na mama esquerda, com hipercaptação anómala de FDG-F18, que relacionamos com a informação clínica de carcinoma da mama. Identificam-se adenopatias supraclaviculares à esquerda, a maior com 34 x 29 mm de maiores eixos axiais e múltiplas axilares homolaterais, a maior com 29 x 23 mm de maiores eixos axiais. No fígado, observamos um nódulo hipodenso no lobo caudado com 10 mm, que relacionamos com	Lesão tumoral primária na mama esquerda com várias adenopatias supraclaviculares e axilares homolaterais.
28	08/05/2009	Doente de 64 anos com carcinoma da mama esquerda com axila positiva. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se área de hiperacumulação anómala de FDG-F18 que corresponde, nas imagens anatómicas, a uma lesão nodular localizada na mama esquerda, medindo aproximadamente 18 mm de eixo axial. Este aspecto anatomo-funcional traduz a presença, a este nível, de uma lesão hipermetabólica compatível com o carcinoma da mama conhecido. Individualiza-se hipercaptação anómala do radiofármaco em adenopatia axilar esquerda, com	Estudo compatível com neoplasia maligna activa na mama esquerda e envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral ao tumor.
29	12/03/2008	Doente de 62 anos com carcinoma do sigmóide, com invasão global da vagina e recto submetida a colectomia esquerda com colostomia e histerectomia com resseção parcial da vagina. Apresenta nódulo na supra-renal esquerda. Estudo pedido para reavaliação.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 6 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Na mama direita, individualiza-se uma formação nodular pericentimétrica com hipercaptação anómala de FDG-F18, aspecto que levanta suspeitas de lesão maligna a justificar estudo complementar para o seu esclarecimento. Observa-se área focal de hiperacumulação do radiofármaco localizada na sela turca, compatível com lesão hipermetabólica hipofisária e, ainda, captação um pouco aumentada de FDG-F18 na supra-renal esquerda, aspectos que justificam,	Este estudo levanta a suspeita de lesão maligna na mama direita. Os aspectos descritos na hipófise e na glândula supra-renal esquerda justificam avaliação complementar para o seu esclarecimento.
30	09/07/2009	Doente com 62 anos com neoplasia da mama direita para estadiamento inicial.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 5 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Visualiza-se, na mama direita, uma lesão nodular com cerca de 18 mm de eixo axial que apresenta intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18. Este aspecto anatomo-funcional traduz lesão hipermetabólica compatível com a lesão neoplásica maligna mamária conhecida. No restante estudo observa-se um padrão de biodistribuição de FDG-G18 dentro da normalidade sem individualização de alterações hipermetabólicas suspeitas de lesões secundárias.	Estudo compatível com neoplasia maligna da mama direita, sem lesões secundárias.

31	28/05/2009	Doente de 61 anos com formação tumoral na mama direita. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 10 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama direita, uma massa nodular com cerca de 11 cm de maior eixo axial com intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18. Este aspecto anatomo-funcional traduz exuberante lesão hipermetabólica compatível com a neoplasia conhecida. Sugerindo envolvimento ganglionar secundário, individualiza-se hipercaptação anómala numa adenopatia axilar direita com cerca de 26 mm de maior eixo axial e, ainda, em duas adenopatias	Estudo compatível com exuberante lesão neoplásica maligna na mama direita e envolvimento ganglionar secundário axilar e entre o pequeno peitoral e o 1º arco costal homolaterais ao tumor.
32	13/06/2008	Doente de 60 anos com neoplasia da mama esquerda operada. Actualmente apresenta recidiva na cicatriz operatória da mastectomia e a cintigrafia óssea mostra foco hiperactivo no fémur direito. Estudo pedido para restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 8.2 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se hiperacumulação anómala de FDG-F18 no local da cicatriz da mastectomia esquerda sugerindo, no contexto clínico de neoplasia da mama, recidiva local. A nível ósseo, individualizam-se dois focos hipermetabólicos compatíveis com metástases ósseas, um situa-se na porção postero-lateral direita do corpo vertebral de D7 e o outro na região sub-trocantérica do fémur direito. No restante estudo observa-se um padrão de	No contexto clínico de neoplasia da mama esquerda já tratado, este estudo sugere recidiva local e duas metástases ósseas, uma em D7 e outra no fémur direito.
33	13/08/2009	Doente de 61 anos com carcinoma ductal invasivo da mama esquerda. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 11 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, um nódulo com cerca de 21 mm de eixo axial, com contornos espiculados e que apresenta, nas imagens funcionais, hipercaptação anómala de FDG-F18. Este aspecto anatomo-funcional traduz lesão hipermetabólica compatível com a lesão maligna mamária conhecida. Sugerindo, neste contexto clínico, envolvimento ganglionar secundário, visualiza-se hipercaptação anómala em múltiplas adenopatias axilares	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna na mama esquerda, com envolvimento ganglionar secundário axilar, superficial e profundo, homolateral ao tumor.
34	14/08/2009	Doente de 60 anos com recidiva local de carcinoma da mama. Estudo pedido para reestadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 7 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Individualiza-se, aparentemente no quadrante supero-interno da mama direita, uma lesão nodular com cerca de 33 x 19 mm de maiores eixos e que apresenta, nas imagens funcionais, hiperacumulação anómala de FDG-F18. Este aspecto traduz lesão hipermetabólica compatível com recidiva local de neoplasia mamária conhecida. Observa-se aumento muito discreto da captação numa estrutura ganglionar axilar superficial	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna em actividade na mama direita. O aspecto descrito na axila esquerda justifica apreciação clínica.
35	02/02/2009	Doente de 58 anos. Nódulo suspeito de carcinoma localmente avançado da mama direita, com cerca de 12 cm e aderente aos planos profundos. Elevação do CA 15.3. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9.4 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Destaca-se intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 numa volumosa massa de conformação nodular, localizada no quadrante infero-interno da mama direita, praticamente adjacente à parede torácica, parecendo envolver a porção inferior do músculo grande peitoral homolateral e, mais inferiormente, os intercostais, medindo aproximadamente 9 x 10 cm. Este aspecto traduz lesão hipermetabólica sugerindo, no contexto clínico, massa neoplásica maligna em actividade.	Este estudo sugere volumosa massa neoplásica maligna na mama direita e envolvimento ganglionar secundário axilar homolateral.

36	15/04/2009	Doente de 58 anos com carcinoma da mama direita ainda não operado, actualmente em quimioterapia neoadjuvante. A PET de estadiamento realizada a 02-02-2009 sugeria volumosa massa neoplásica maligna na mama direita e envolvimento ganglionar secundário axilar homolateral. Estudo pedido para avaliação da resposta ao tratamento, 3 semanas após o 3º ciclo de	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 8mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Continuamos a observar hiperacumulação anómala de FDG-F18 na lesão situada no quadrante infero-interno da mama direita, à frente da 5ª e 6ª costelas, medindo actualmente cerca de 56x14mm de maiores diâmetros axiais. Esta alteração sugere manter-se tecido tumoral viável, embora com franca redução das dimensões e da actividade metabólica. No restante estudo existe um padrão de biodistribuição do radiofármaco dentro da normalidade, sem individualização de alterações	Este estudo sugere manter-se doença neoplásica maligna em actividade na mama direita, embora com redução muito significativa das dimensões e da actividade metabólica comparativamente com o exame de estadiamento realizado a 02-02-2009.
37	03/02/2009	Doente de 58 anos. Carcinoma da mama esquerda. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 11.3 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, uma massa praticamente nodular com cerca de 5 x 3 cm. Esta massa apresenta intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 traduzindo lesão hipermetabólica compatível com a informação clínica de carcinoma da mama. Na mama direita visualiza-se uma zona de densificação com captação aumentada do radiofármaco. Este aspecto anatomo-funcional pode levantar a suspeita de doença neoplásica	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna da mama esquerda e envolvimento ganglionar secundário axilar homolateral ao tumor. O aspecto descrito na mama contralateral justifica estudo complementar para o seu esclarecimento.
38	03/02/2009	Doente de 58 anos. Carcinoma da mama esquerda. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 11.3 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, uma massa praticamente nodular com cerca de 5 x 3 cm. Esta massa apresenta intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 traduzindo lesão hipermetabólica compatível com a informação clínica de carcinoma da mama. Na mama direita visualiza-se uma zona de densificação com captação aumentada do radiofármaco. Este aspecto anatomo-funcional pode levantar a suspeita de doença neoplásica	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna da mama esquerda e envolvimento ganglionar secundário axilar homolateral ao tumor. O aspecto descrito na mama contralateral justifica estudo complementar para o seu esclarecimento.
39	22/06/2009	Doente de 58 anos com carcinoma da mama localmente avançado. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, hipercaptação anómala de FDG-F18 com distribuição heterogénea compatível com a neoplasia maligna conhecida. Esta hipercaptação estende-se superficialmente até à pele, que se apresenta espessada, sugerindo envolvimento cutâneo. Compatível com envolvimento ganglionar secundário, observa-se hipercaptação anómala em adenopatias axilares esquerdas, na janela aorto-pulmonar, subcarínicas e bronco-hilares bilaterais.	Estudo compatível com neoplasia maligna da mama esquerda com extensão à pele, com envolvimento ganglionar secundário axilar homolateral ao tumor, mediastínico e bronco-hilar bilateral, extensa metastização pulmonar bilateral e, ainda, quadro de metastização óssea disseminada.
40	14/08/2009	Doente de 58 anos com carcinoma bifocal da mama direita, com provável invasão ganglionar da axila homolateral. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 5 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama direita, intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 numa lesão nodular medindo cerca de 17 mm de eixo axial. Situada mais internamente na mesma mama, individualiza-se uma segunda lesão nodular mais pequena, pericentimétrica, com hipercaptação anómala do radiofármaco. Estes aspectos traduzem lesões hipermetabólicas compatíveis com a neoplasia maligna mamária bifocal conhecida. Sugerindo envolvimento ganglionar secundário,	Estudo compatível com neoplasia maligna bifocal da mama direita e envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral ao tumor.

41	24/07/2007	Doente de 55 anos com neoplasia da mama esquerda diagnosticada em 1994. Apresenta metástases hepáticas desde Novembro de 2006, encontrando-se em quimioterapia. Estudo pedido para restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 13mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	No fígado individualizam-se duas áreas de hipercaptação anómala de FDG-F18, uma no segmento VII e outra no segmento VI do lobo direito sugerindo, no contexto clínico, metastização hepática activa. Refere-se, contudo, que a PET tem baixa sensibilidade em lesões tumorais produtoras de muco, pelo que a ausência de captação do radiofármaco nas outras formações nodulares visíveis na CT em ambos os lobos hepáticos, não permite excluir tecido tumoral viável.	No contexto clínico de neoplasia da mama esquerda tratado, actualmente em quimioterapia por metastização hepática, este estudo sugere manter-se envolvimento secundário no fígado. O aspecto descrito na parede anterior do hemitórax esquerdo justifica estudo complementar para o seu esclarecimento.
42	23/07/2009	Doente de 57 anos com carcinoma da mama metastizado. A PET anterior de Novembro de 2008, para estadiamento inicial, sugeriu envolvimento ganglionar secundário e quadro de metastização óssea múltipla. Operada à anca direita em Dezembro de 2008 por metástase óssea, com colocação de prótese. Estudo pedido para avaliação intermédia da resposta à quimioterapia (último ciclo em 2/7/2009).	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 6,6 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama direita, hipercaptação anómala envolvendo, de modo difuso, a pele que, nas imagens anatómicas, se apresenta espessada, o tecido celular subcutâneo e a glândula mamária. Este aspecto não era aparente em exame anterior e justifica apreciação clínica, uma vez que levanta a suspeita de envolvimento neoplásico cutâneo. Embora com redução da intensidade e da extensão em relação ao exame de estadiamento realizado em Novembro de 2008, continuamos a observar	No contexto clínico de carcinoma da mama direita submetido a quimioterapia neoadjuvante, este estudo sugere manter-se metastização ganglionar, menos extensa que na PET de estadiamento, a nível supra-clavicular e axilar à direita e levanta a suspeita de envolvimento neoplásico maligno da mama direita. Atendendo à administração recente de citostáticos, a ausência de captação nas metástases ósseas conhecidas poderá relacionar-se com stunning metabólico, pelo que se sugere a
43	05/05/2009	Doente de 56 anos com carcinoma localmente avançado da mama esquerda, classificado clinicamente em T4bN1Mx.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se uma área de intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 que corresponde, nas imagens anatómicas, a uma lesão de contornos irregulares medindo cerca de 6 x 3 cm, localizada na mama esquerda. Este aspecto anatomo-funcional corresponderá à lesão carcinomatosa conhecida a este nível. Constata-se significativo espessamento da pele da mama esquerda, apresentando captação aumentada do radiofármaco, aspecto que levanta a	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna da mama esquerda com extensão à pele e envolvimento ganglionar secundário axilar e interpeitoral homolateral ao tumor.
44	16/01/2009	Doente de 55 anos. Carcinoma da mama tratado em 2001, actualmente com suspeita de recorrência local ou sistémica. Estudo pedido para restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 7.2 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Na porção antero-superior do hemitórax direito, observa-se hipercaptação heterogénea de FDG-F18 a nível dos tecidos moles parietais, parecendo envolver nomeadamente os músculos pequeno e grande peitoral, o tecido celular subcutâneo, estendendo-se ainda para a pele. Este aspecto traduz envolvimento hipermetabólico sugerindo, no contexto clínico de carcinoma da mama direita operada, recidiva e extensa doença parietal em actividade.	No contexto clínico de carcinoma da mama tratado, este estudo sugere extensa recidiva local a nível da parede anterior do hemitórax direito, envolvimento secundário pleuro-pulmonar homolateral com possível derrame pleural de origem neoplásica associado e, ainda, metastização ganglionar e óssea.
45	13/05/2009	Doente de 55 anos com carcinoma da mama tratado em 2001. A PET anterior de Janeiro de 2009 sugeriu recidiva a nível da parede anterior do hemitórax direito, envolvimento secundário pleuro-pulmonar homolateral com possível derrame pleural de origem neoplásica associado e, ainda, metastização ganglionar e óssea. Estudo pedido para reestadiamento após quimioterapia.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 6 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Esboça-se hiperacumulação do radiofármaco na parede anterior do hemitórax direito, com significativa redução da intensidade de captação e muito menos extensa comparativamente com o exame anterior. Esta hipercaptação continua a envolver os músculos peitorais, o tecido celular subcutâneo e a pele. Este aspecto sugere manter-se doença parietal em actividade, verificando-se, contudo, marcada melhoria em relação ao estudo anterior.	No contexto clínico de carcinoma da mama após quimioterapia, este estudo sugere manter-se, embora com significativa redução da extensão e da actividade metabólica, doença neoplásica activa a nível da parede anterior do hemitórax esquerdo, envolvimento pleuro-pulmonar, ganglionar e ósseo. No presente estudo destaca-se, contudo, o aparecimento de uma nova adenopatia compatível com envolvimento ganglionar secundário na janela aorto-pulmonar.

46	15/01/2007	Doente de 52 anos submetida a mastectomia esquerda por carcinoma. Actualmente com suspeita de recorrência tumoral no manúbrio esternal e na cicatriz da mastectomia. Estudo pedido para restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões e correcção de atenuação por CT. Adquiriram-se imagens de emissão, bem como de transmissão para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcional.	Na região mamária esquerda, junto à cicatriz da mastectomia, identificam-se quatro focos de hiperacumulação anómala de FDG-F18 compatíveis com a suspeita clínica de recorrência a este nível. Observa-se hiperacumulação anómala de FDG-F18 em adenopatias pericentimétricas, laterocervical inferior esquerda, duas axilares direitas e, ainda, em conglomerados adenopáticos no hilo hepático e na cadeia lombo-aórtica à frente do corpo vertebral	No contexto clínico de carcinoma da mama tratado, este estudo sugere recorrência ao nível da cicatriz da mastectomia, metastização hepática, óssea, pleural e, ainda, ganglionar supra e infra-diafragmática. O aspecto descrito no fundo do útero justifica apreciação clínica e estudo complementar.
47	09/12/2009	Doente de 53 anos com carcinoma da mama para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 10 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, uma formação nodular com cerca de 22 mm de eixo axial que exibe intensa hipercaptação anómala de FDG-F18 traduzindo lesão mamária hipermetabólica compatível com a neoplasia maligna conhecida. Sugerindo, neste contexto clínico, envolvimento ganglionar secundário, visualiza-se intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 num conglomerado adenopático, medindo a maior adenopatia aproximadamente 25 mm de eixo axial.	Estudo compatível com neoplasia maligna da mama esquerda com envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral.
48	11/09/2009	Doente de 53 anos com neoplasia da mama direita para estadiamento inicial.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 6 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama direita, uma área de captação aumentada de FDG-F18 correspondendo, nas imagens anatómicas, a uma zona de densificação dos tecidos moles, aspecto anatomo-funcional que deverá estar relacionado com a lesão neoplásica conhecida. No restante estudo existe um padrão de biodistribuição do radiofármaco dentro da normalidade, sem individualização de alterações hipermetabólicas suspeitas de lesões secundárias.	Estudo compatível com neoplasia da mama direita, sem lesões secundárias.
49	05/03/2007	Doente de 49 anos com carcinoma da mama esquerda (T3N1M0) não operado e submetido a 4 ciclos de quimioterapia que finalizou no dia 13 de Fevereiro. Recomeça amanhã 5º ciclo. Estudo pedido para avaliação da resposta intermédia à terapêutica e restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 8 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões e correcção de atenuação por CT. Adquiriram-se imagens de emissão, bem como de transmissão para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcional.	Observa-se, na região mamária esquerda, uma área de limites irregulares e de hiperacumulação anómala de FDG-F18. Este aspecto traduz lesão hipermetabólica sugerindo, no contexto clínico de carcinoma da mama esquerda não operado e após 4 ciclos de quimioterapia, manter-se doença maligna em actividade. No restante estudo visualiza-se um padrão de biodistribuição do radiofármaco dentro da normalidade, sem alterações suspeitas de lesões	No contexto clínico de carcinoma da mama esquerda não operado e após 4 ciclos de quimioterapia, este estudo sugere manter-se doença maligna mamária sem evidência de lesões secundárias.
50	31/08/2009	Doente de 52 anos com carcinoma da mama esquerda submetido a mastectomia e quimioterapia em 2004. Actualmente apresenta formação tumoral na transição dos quadrantes externos da mama esquerda. Estudo pedido para reestadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 7 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, uma formação nodular, de contornos irregulares, com cerca de 29 x 27 mm, com intensa hipercaptação anómala de FDG-F18. Este aspecto anatomo-funcional traduz lesão hipermetabólica sugerindo, no contexto clínico de carcinoma dessa mama tratado, recidiva local. No restante estudo existe um padrão de biodistribuição do radiofármaco dentro da normalidade, sem individualização de alterações	No contexto clínico de carcinoma da mama esquerda tratado, este estudo sugere recidiva local.

51	17/09/2009	Doente de 52 anos. Carcinoma da mama, com metastização óssea conhecida. Estudo pedido para restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 7.6 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se hipercaptação envolvendo os tecidos moles da porção superior da parede torácica direita, na topografia da glândula mamária, aspecto traduzindo envolvimento hipermetabólico suspeito de recidiva local. Sugerindo metastização óssea, observam-se múltiplas áreas de hiperacumulação anómala de FDG-F18, na base do crânio, ao longo da coluna cervico-dorso-lombo-sagrada, nos ossos da bacia, bilateralmente na grelha costal, nas omoplatas, no	Estudo compatível com recidiva local, metastização pulmonar e ganglionar bronco-hilar à direita, das supra-renais e, ainda, quadro de metastização óssea disseminada.
52	26/06/2009	Doente de 51 anos com carcinoma da mama para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 8 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 numa lesão vagamente nodular, de contornos irregulares, com cerca de 31 mm de maior eixo axial, situada na mama direita. Este aspecto anatomo-funcional traduz lesão hipermetabólica compatível com a neoplasia maligna mamária conhecida. Individualiza-se uma segunda área de hipercaptação do radiofármaco correspondendo a uma outra lesão vagamente nodular de contornos irregulares, medindo cerca de	Estudo compatível com neoplasia maligna mamária bilateral, multifocal à direita, com envolvimento ganglionar secundário axilar à direita, levantando, ainda, a suspeita de metastização pulmonar bilateral.
53	30/06/2009	Doente de 51 anos com carcinoma da mama. Estudo pedido para estadiamento inicial.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 11 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, hiperacumulação anómala de FDG-F18 em duas lesões nodulares, a maior com cerca de 16 x 10 mm de eixos axiais e a segunda, peri-centimétrica, situada um pouco acima e internamente. Estes aspectos anatomo-funcionais traduzem lesões hipermetabólicas compatíveis com neoplasia mamária maligna conhecida, sugerindo neoplasia multifocal. Visualiza-se hipercaptação do radiofármaco em várias adenopatias axilares esquerdas, a maior com	Estudo compatível com neoplasia maligna multifocal da mama esquerda e envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral ao tumor.
54	25/02/2009	Doente de 50 anos. Carcinoma da mama esquerda localmente avançado. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 8.5mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Visualiza-se, na mama esquerda, extensa densificação com hiperacumulação anómala de FDG-F18, destacando-se uma área focal de maior intensidade no quadrante superior-externo. Este aspecto anatomo-funcional traduz doença hipermetabólica compatível com a informação clínica de carcinoma a este nível. Sugerindo envolvimento ganglionar secundário, observa-se hiperacumulação anómala de FDG-F18 em adenopatias axilares homolaterais ao tumor.	No contexto clínico, este estudo evidencia o tumor primitivo na mama esquerda e sugere envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral ao tumor.
55	09/10/2009	Doente de 51 anos com carcinoma da mama direita após quimioterapia neoadjuvante (6º ciclo em 17/9/2009).	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 11 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama direita, uma zona de densificação de tecidos moles que apresenta, nas imagens funcionais, captação um pouco aumentada de FDG-F18, aspecto anatomo-funcional compatível com a neoplasia maligna mamária conhecida, sugerindo manter-se, após quimioterapia neoadjuvante, doença em actividade. Identificamos também, com aspecto anatomo-funcional semelhante, uma densificação de tecidos moles com captação um pouco aumentada do	No contexto clínico de carcinoma da mama direita após quimioterapia neoadjuvante, este estudo sugere manter-se doença local activa, actualmente sem lesões secundárias em actividade. O aspecto descrito na mama contralateral merece apreciação clínica.

56	22/10/2009	Doente de 50 anos com a mama esquerda transformada numa formação tumoral pétrea e com nódulos axilares pétreos. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9,5 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Destaca-se intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 numa volumosa massa de contornos irregulares que ocupa praticamente toda a mama esquerda e que mede, de maiores eixos transversal, cerca de 123 mm, antero-posterior cerca de 47 mm e vertical cerca de 85 mm. Este aspecto anatomo-funcional traduz exuberante lesão hipermetabólica compatível com neoplasia maligna da mama esquerda. Esta lesão estende-se à pele da região mamária, que se apresenta	Estudo compatível com neoplasia maligna da mama esquerda, envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral ao tumor, bronco-hilar, infra-clavicular e jugular inferior bilateral, mediastínico, supra-clavicular e tiroideu à esquerda e, ainda, metastização pulmonar bilateral.
57	31/08/2009	Doente de 49 anos com carcinoma da mama esquerda. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 11 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, uma formação nodular com cerca de 54 x 38 mm de maiores eixos, com contornos irregulares e hipercaptação anómala de FDG-F18, aspecto anatomo-funcional traduzindo lesão mamária hipermetabólica compatível com o carcinoma da mama conhecido. Sugerindo, neste contexto clínico, envolvimento ganglionar secundário, visualiza-se hiperacumulação anómala de FDG-F18 em adenopatias axilares esquerdas, medindo a maior	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna na mama esquerda com envolvimento ganglionar secundário axilar, infra e supra-clavicular homolateral ao tumor, merecendo, ainda, apreciação clínica, o aspecto descrito na região cervical ipsilateral.
58	15/03/2010	Doente de 50 anos com carcinoma da mama a fazer QT paliativa.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 11,8 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, uma formação nodular actualmente com cerca de 75x47mm de maiores eixo (media aproximadamente 54 x 38 mm de maiores eixos no estudo de Agosto de 2009), com contornos irregulares e hipercaptação anómala de FDG-F18, de maior intensidade. Este aspecto anatomo-funcional traduz doença maligna da mama esquerda em progressão. Exibindo maiores dimensões e maior grau de actividade metabólica observamos	Estudo compatível com ausência de resposta à quimioterapia, com lesão neoplásica maligna na mama esquerda e doença ganglionar secundária, axilar, infra e supra-clavicular homolateral ao tumor, em progressão.
59	29/11/2007	Doente de 46 anos com metástases ósseas e pulmonares de carcinoma da mama. Estudo pedido para restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9.2mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Na glândula mamária esquerda existe hipercaptação anómala de FDG-F18, sugerindo envolvimento neoplásico maligno a este nível. Na pele da parede anterior do hemitórax direito identificam-se pequenos focos de hiperacumulação do radiofármaco compatíveis com metástases cutâneas. Observam-se múltiplas áreas de hipercaptação anómala de FDG-F18 dispersas pelo esqueleto, por metastização óssea disseminada, envolvendo a	No contexto clínico, este estudo sugere envolvimento neoplásico maligno da glândula mamária esquerda, metastização cutânea da parede anterior do hemitórax direito, envolvimento ganglionar secundário medistínico, supra-clavicular direito e axilar esquerdo, metastização pulmonar e óssea disseminadas e levanta, ainda, a suspeita de metástases cerebelosa e da supra-renal direita.
60	02/02/2010	Doente de 48 anos com carcinoma da mama localmente avançado. Estadiamento pré-quimioterapia.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 6 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, uma lesão nodular de contornos regulares com cerca de 35 mm de eixo axial que apresenta, nas imagens funcionais, intensa hipercaptação anómala de FDG-F18. Trata-se de uma lesão com aspecto anatomo-funcional sugestivo de malignidade. Na axila esquerda, identificam-se algumas adenopatias peri-centimétricas exibindo, pelo menos uma delas, captação aumentada de FDG-F18 sugerindo, no presente contexto clínico,	Estudo compatível com neoplasia da mama esquerda e envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral ao tumor.

61	17/04/2009	Doente de 46 anos com carcinoma da mama localmente avançado em 2002, submetida a quimioterapia, cirurgia e radioterapia. Em 2007 apareceu com metástases, pulmonares e ósseas na coluna lombar e na sacroilíaca direita, pelo que foi submetida a quimioterapia e radioterapia lombo-sagrada. Estudo pedido para reavaliação.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 7 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Na axila esquerda, observa-se um nódulo com cerca de 13 mm que apresenta hiperacumulação anómala de FDG-F18. Este aspecto traduz a presença, a este nível, de uma lesão hipermetabólica sugerindo, no contexto clínico, lesão neoplásica maligna em actividade compatível com recidiva axilar. Esta hipercaptação anómala estende-se posteriormente para o tecido muscular na proximidade da região axilar esquerda, sugerindo invasão neoplásica da musculatura	No contexto clínico de carcinoma da mama esquerda, este estudo sugere recidiva na axila esquerda com extensão à musculatura adjacente, envolvimento ganglionar secundário mediastínico e exuberante quadro de metastização óssea/medular disseminada.
62	25/03/2009	Doente de 46 anos. Carcinoma ductal invasivo do quadrante superior externo da mama direita. Estudo pedido para estadiamento inicial pré-quimioterapia.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 4.7 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama direita, uma lesão nodular de contornos regulares, com cerca de 15 mm de eixo axial com hiperacumulação anómala de FDG-F18. Este aspecto anatomo-funcional é compatível com lesão neoplásica maligna. No restante estudo existe um padrão de biodistribuição do radiofármaco dentro da normalidade, sem alterações hipermetabólicas suspeitas de lesões secundárias.	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna primitiva da mama direita.
63	08/09/2009	Doente de 45 anos com carcinoma da mama para estadiamento inicial.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, uma lesão nodular com cerca de 27 mm de maior eixo axial que apresenta, nas imagens funcionais, intensa hipercaptação anómala de FDG-F18. Este aspecto anatomo-funcional traduz lesão hipermetabólica compatível com o carcinoma da mama conhecido. No restante estudo existe um padrão de biodistribuição normal de FDG-F18, sem individualização de alterações hipermetabólicas suspeitas de lesões secundárias.	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna na mama esquerda, sem individualização de alterações hipermetabólicas suspeitas de lesões secundárias.
64	06/07/2009	Doente de 45 anos com neoplasia da mama esquerda. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 7 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama esquerda, uma zona de densificação de tecidos moles que apresenta, nas imagens funcionais hipercaptação anómala de FDG-F18 com distribuição muito heterogénea. Este aspecto anatomo-funcional traduz a presença de lesão mamária hipermetabólica compatível com a neoplasia maligna conhecida. Sugerindo, neste contexto clínico, metastização óssea visualiza-se hiperacumulação anómala de FDG-F18 na porção superior do corpo do esterno.	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna na mama esquerda e lesão óssea secundária no esterno.
65	08/01/2010	Doente de 45 anos com metastização de carcinoma da mama no tecido celular sub-cutâneo na parede torácica anterior. Restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 11 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	A nível do tecido celular sub-cutâneo com ligeira lateralização direita, vê-se um pequeno nódulo adjacente ao clipe de hemostase, à frente do grande peitoral, medindo 16mm. Este nódulo é funcionalmente activo pelo que é suspeito de corresponder a foco tumoral recorrente. Admite-se a existência de um segundo nódulo em sede mais interna, ao mesmo nível do anterior, de dimensões milimétricas (4mm) exibindo, igualmente, hipercaptação anómala de FDG-F18 suspeito,	Estudo compatível com recorrência no tecido celular sub-cutâneo na parede torácica anterior direita, sem lesões secundárias a outros níveis.

66	29/10/2009	Doente de 44 anos com carcinoma da mama esquerda. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 8 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, no quadrante superior externo da mama esquerda, hipercaptação anómala de FDG-F18 numa densificação de tecidos moles assumindo conformação vagamente nodular, de limites irregulares, medindo cerca de 2 cm de maior eixo axial. Este aspecto anatomo-funcional traduz lesão hipermetabólica compatível com a neoplasia maligna conhecida. Refere-se a presença, em ambas as axilas, de estruturas ganglionares pericentimétricas sem	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna na mama esquerda, sem lesões secundárias. Os aspectos descritos a nível axilar merecem, contudo, apreciação clínica.
67	16/10/2009	Doente de 43 anos com carcinoma da mama direita com metastização óssea para a coluna vertebral. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 11 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, na mama direita, extensa densificação dos tecidos moles com intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18. Este aspecto anatomo-funcional traduz compromisso hipermetabólico compatível com o carcinoma da mama conhecido. Embora de modo menos extenso e com menor intensidade, visualiza-se, na mama contralateral, densificação dos tecidos moles com captação aumentada do radiofármaco, aspecto que merece apreciação clínica e investigação complementar.	Estudo compatível com neoplasia maligna da mama direita e metastização óssea disseminada. O aspecto referido na mama esquerda merece apreciação clínica.
68	28/04/2008	Doente de 40 anos com carcinoma da mama esquerda submetida a mastectomia radical em 2003, e recidivas em 2005, Maio de 2006 e, actualmente, na mama direita. Finalizou quimioterapia há cerca de 2 meses. Estudo pedido para restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Na mama direita individualizam-se duas áreas de hipercaptação anómala do radiofármaco sugerindo, no contexto clínico, recidiva. Observa-se hiperacumulação anómala do radiofármaco traduzindo extensa metastização óssea disseminada, nomeadamente envolvendo as clavículas, omoplatas, ao longo da coluna vertebral cervico-dorso-lombossagrada, o esterno, a grelha costal, os ossos da bacia, a porção proximal dos úmeros e, de forma marcada, ao longo dos	No contexto clínico, este estudo sugere recorrência na mama direita acompanhada de quadro de metastização hepática e óssea disseminada.
69	08/02/2010	Doente de 41 anos com carcinoma da mama. Estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 7 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	No quadrante superior externo da mama direita identifica-se uma lesão vagamente nodular com cerca de 20 mm de maior eixo axial com captação aumentada de FDG-F18 nas imagens funcionais, compatível com a lesão neoplásica maligna conhecida. Na axila homolateral visualizam-se algumas estruturas ganglionares, a maior com cerca de 7 mm e com captação um pouco aumentada de FDG-F18, aspecto que, no presente contexto, justifica	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna na mama direita. Gânglios na axila homolateral a merecerem apreciação clínica.
70	13/10/2006	Doente de 37 anos com metástases cerebrais de tumor de origem desconhecida. Vem para pesquisa do tumor oculto.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 13 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões e correcção de atenuação por CT. Adquiriram-se imagens de emissão, bem como de transmissão para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcional.	Destaca-se área de intensa hipercaptação de FDG-F18 que corresponde, nas imagens anatómicas, a extensa área de densificação do tecido mamário direito. Este aspecto traduz alteração hipermetabólica sugerindo envolvimento neoplásico maligno compatível com um tumor primitivo. Observam-se áreas de captação aumentada de FDG-F18 em várias adenopatias bilaterais, laterocervicais, supra e infraclaviculares, paratraqueais, bronco-hilares, axilares superficiais e	No contexto clínico, este estudo sugere lesão maligna primitiva na mama direita, extenso envolvimento ganglionar secundário supradiafragmático e pleuropulmonar bilateral e metastização óssea disseminada. Levanta, ainda, a suspeita de envolvimento neoplásico na topografia do anexo esquerdo.

71	11/09/2007	Doente de 36 anos com carcinoma da mama direita, operada em Setembro de 2006, submetida a quimioterapia neoadjuvante e quimioterapia e radioterapia adjuvante. Actualmente apresenta recidiva local e carcinoma da mama esquerda, com adenopatia axilar homolateral. Estudo pedido para restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 6mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observam-se várias áreas de hipercaptação anómala de FDG-F18, com diferentes índices metabólicos, dispersas pela glândula mamária esquerda, sendo possível individualizar três focos mais intensos, o maior dos quais situa-se nos quadrantes externos. Estes aspectos traduzem alterações hipermetabólicas compatíveis com envolvimento neoplásico maligno multifocal da mama esquerda. Visualizam-se três pequenos focos de	No contexto clínico, este estudo sugere envolvimento neoplásico maligno multifocal da mama esquerda, recidiva local do carcinoma da mama direita e metástase num gânglio da cadeia axilar esquerda.
72	23/03/2009	Doente de 37 anos. Carcinoma da mama. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 6 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 na mama direita, aspecto correspondendo à neoplasia maligna conhecida Sugerindo envolvimento ganglionar secundário, visualiza-se hiperacumulação anómala do radiofármaco em adenopatias axilares direitas. No restante estudo existe um padrão de biodistribuição do radiofármaco dentro da normalidade, sem alterações suspeitas de lesões secundárias a outros níveis.	Estuco compatível com neoplasia maligna da mama direita, com envolvimento ganglionar secundário axilar homolateral.
73	24/09/2009	Doente 38 anos com carcinoma da mama direita. A PET anterior de Março de 2009 sugeriu envolvimento ganglionar secundário na axila homolateral ao tumor. Submetida a quimioterapia que terminou em 27/8/2009.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observam-se duas áreas focais de hiperacumulação anómala de FDG-F18 nos quadrantes externos da mama direita, traduzindo lesões hipermetabólicas compatíveis com neoplasia maligna mamária multifocal em actividade. No restante estudo existe um padrão de biodistribuição do radiofármaco dentro da normalidade, nomeadamente na axila direita, onde se observa significativa redução dimensional e do número de gânglios relativamente ao exame	Este estudo sugere manter-se, após quimioterapia, neoplasia maligna multifocal activa na mama direita, actualmente sem individualização de outras lesões hipermetabólicas em actividade.
74	17/10/2008	Doente de 37 anos com carcinoma da mama direita localmente avançado. Foi submetida a QT neo adjuvante até 16/09/2008. Estudo pedido para reestadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 10 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se uma área de hipercaptação heterogénea de FDG-F18 nos quadrantes externos da mama direita que relacionamos com o tumor primitivo conhecido a este nível. Visualiza-se hipercaptação do radiofármaco em locais de espessamento cutâneo da mama direita, aspecto a valorizar clinicamente, podendo corresponder a envolvimento neoplásico. Restante estudo sem outros aspectos significativos, nomeadamente sem lesões secundárias de elevado	Este estudo mostra lesão hipermetabólica na mama direita compatível com o tumor primitivo, e levanta a suspeita de envolvimento cutâneo mamário.
75	13/08/2009	Doente de 36 anos com carcinoma da mama bilateral. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 7 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Visualiza-se, aparentemente no quadrante infero-externo da mama esquerda, uma lesão nodular de contornos irregulares medindo cerca de 17 mm de eixo axial, que apresenta, nas imagens funcionais, intensa hipercaptação anómala de FDG-F18. Observa-se, ainda, aparentemente no quadrante supero-interno da mama direita, uma lesão vagamnete nodular, peri-centimétrica também com captação aumentada de FDG-F18. Estes aspectos anatomo-funcionais traduzem lesões	Estudo compatível com neoplasia maligna mamária bilateral e metastização pulmonar bilateral.

76	14/10/2009	Doente de 35 anos com carcinoma da mama direita classificado em T2N1Mx. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 6,6 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se, no quadrante inferior externo da mama direita, uma densificação dos tecidos moles assumindo aspecto vagamente nodular com captação aumentada de FDG-F18. Esta alteração anatomo-funcional traduz a presença de lesão hipermetabólica compatível com o carcinoma mamário conhecido. Visualiza-se, ainda, captação aumentada de FDG-F18 em adenopatias axilares direitas, medindo a maior cerca de 20 mm de eixo axial, sugerindo	Estudo compatível com carcinoma da mama direita e envolvimento ganglionar secundário axilar homolateral ao tumor, levantando, ainda, a suspeita de envolvimento ganglionar secundário na axila contralateral.
77	08/05/2009	Doente de 35 anos com carcinoma da mama esquerda. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 8 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Observa-se área de intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18 que corresponde, nas imagens anatómicas, a uma lesão vagamente nodular de contornos muito irregulares localizada na mama esquerda, medindo aproximadamente 37 x 31 mm. Este aspecto anatomo-funcional traduz a presença, a este nível, de uma lesão hipermetabólica compatível com o carcinoma da mama conhecido. Individualiza-se hipercaptação anómala do	Estudo compatível com neoplasia maligna activa na mama esquerda e envolvimento ganglionar secundário axilar e supra-clavicular homolateral ao tumor.
78	27/02/2009	Doente de 32 anos. Carcinoma da mama esquerda com envolvimento da axila homolateral. Estudo pedido para restadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 8.9mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Na mama esquerda identifica-se uma área heterogénea de intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18, traduzindo lesão hipermetabólica, compatível com a neoplasia maligna primitiva conhecida. Sugerindo envolvimento ganglionar secundário, visualiza-se hiperacumulação anómala de FDG-F18 em adenopatias axilares profundas esquerdas. No restante estudo existe uma normal biodistribuição do radiofármaco, sem	Estudo compatível com lesão neoplásica maligna da mama esquerda com envolvimento ganglionar secundário axilar homolateral ao tumor.
79	10/10/2008	Doente de 30 anos com tumor mesenquimatoso maligno. Estudo pedido para estadiamento.	Cerca de 60 minutos após a administração intravenosa de 9 mCi de FDG-F18 efectuou-se estudo tomográfico por emissão de positrões, bem como de transmissão por CT para correcção de atenuação e mapeamento anatómico. No processamento obtiveram-se cortes transversais, coronais e sagitais e imagens de fusão anatomo-funcionais.	Destaca-se a presença, em praticamente toda a mama direita, de intensa hiperacumulação anómala de FDG-F18, com distribuição muito heterogénea envolvendo principalmente os quadrantes externos. Este aspecto traduz exuberante envolvimento hipermetabólico sugerindo extensa doença maligna em actividade. Refere-se que a hiperactividade observada se limita à glândula mamária não existindo invasão da parede torácica. Visualiza-se, ainda, intensa hipercaptação anómala	Estudo compatível com extensa doença maligna envolvendo a mama direita com envolvimento ganglionar secundário axilar homolateral.

CASO	BIÓPSIA	AN_HISTOLÓGICA	GRAU INVASIVO	N.º NÓDULOS	IMUNOMARCAÇÃO	CLASSIFICAÇÃO TNM	QUADRANTE(S)
1	Ca lobular invasivo		infiltração maciça da derme e tecido celular subcutâneo	1	RE+, RP+, CerbB2-		
2	Ca lobular invasivo	Ca lobular invasivo	G1/G2	2	RE+, RP-, CerbB2-	T1N1Mx	
3	Ca ductal invasivo	Ca ductal in situ e invasivo; embolização linfática tumoral	G2	empastamento	RE+, RP-, CerbB2+	TxN2aMx (PET revela envolvimento ganglionar homolateral e metastização pulmonar, hepática e óssea)	
4	Sem biópsia ou análise histopatológica no processo (ver sistema informático)						
5	Hiperplasia ductal moderada. Sugere-se repetição da biópsia ou remoção da totalidade da lesão (ver sistema						

6	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G2	1	RE+, RP+, CerbB2+	T2N1Mx
7	Ca ductal invasivo (apócrino?);componente in situ associado na periferia		G2	1	RE+, RP+, CerbB2-	invasão homoaxilar
8	Ca ductal invasivo com componente ductal in situ associado	Ca ductal invasivo bem diferenciado com componente ductal in situ minoritário associado	G1	2	RE+, RP+, CerbB2-	T1N1Mx
9	Ca lobular invasivo	Ca lobular invasivo q atinge a mama de forma difusa		1	RE+, RP+, CerbB2-	T4N3M1
10	Ca mucinoso invasivo			1	RE+, RP+, CerbB2-	metastização pulmonar e linfática

11	Ca ductal invasivo		G2	1	RE+, RP+, CerbB2-	PET revela envolvimento ganglionar axilar, mediastínico, cerebeloso, ósseo e pulmonar
12	Ca ductal invasivo	Ca invasivo do tipo apócrino	G3	1	RE-, RP-, CerbB2-	T4bN2M1
13	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G2/G3	1	RE-, RP-, CerbB2-	T3N1M0
14	Ca invasivo, provável ca apócrino		G2	1	RE-, RP-, CerbB2- (este último com imunomarcação duvidosa, a carecer de confirmação)	metastização óssea e ganglionar disseminada
15						

16	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G2	1	RE+++, RP+, CerbB2+++	T2N1Mx (estadiamento inicial); metastização disseminada na altura desta PET	
17	Ca ductal invasivo (mama esq.); Ca ductal invasivo (mama dta.)	Ca ductal invasivo (mama esq.); Ca ductal invasivo (mama dta.)	G2 (mama esq.) e G1 (mama dta.)	1 (mama esq.); 2 (mama dta.)	RE+, RP+, CerbB2-	T1Nx (mama esq.); T2(m)N1a (mama dta.)	
18	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo multifocal	G1	1	RE+, RP+, CerbB2-	T1cN0M0 (estadiamento inicial); a PET 2010 sugere recidiva local e suspeita de metastização óssea	
19		Ca ductal invasivo viável em 30%	G2	1	RE+, RP+, CerbB2-	T2N1Mx	
20	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G3	2	RE-, RP-, CerbB2-	T2N1 (metastização pulmonar e cerebral)	QSEME

21	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G2/G3	1	RE-, CerbB2++	T4bN1Mx
22	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo com componente ductal in situ	G2 + G3 no contexto CIS	1	RE+, RP-, CerbB2-	T2N2Mx
23	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G1	1	RE-, RP-, CerbB2-	T3N1Mx
24	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G2	1	RE+, RP-, CerbB2-	TxN1Mx
25	Sem biópsia ou análise histopatológica no processo (ver sistema informático)					

26	Ca ductal invasivo com componente ductal in situ associado	Ca ductal invasivo residual	provável G2 na biópsia	1	RE+, RP+, CerbB2+ (HER2/neu (por SISH - *silver-enhanced in situ hybridization*) positiva)	T3N2Mx
27						
28	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G2	1	RE+, RP+, CerbB2+	T1N1M0
29	Ca ductal invasivo	Ca ductal in situ; o 2.º nódulo tem tb componente de Ca ductal invasivo	G2	2	RE+, RP+, CerbB2-	T2N0
30	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G1	1	RE+, RP+, CerbB2-	T1N0M0

31	Ca mucinoso invasivo					RE+, RP+, CerbB2-	T4N2aM0 (estadio IIIB)
32	Ca invasivo da zona cicatricial compatível com o tumor primitivo inicial (ca lobular invasivo)	peça de alargamento de cicatriz de mastectomia sem infiltração tumoral (observando-se apenas reacção inflamatória gigante-celular)				RE+, RP+, CerbB2-	2 focos de metastização óssea
33	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G3		1	RE+, RP+, CerbB2-	T2N2aM0
34	Ca ductal invasivo	peça de mastectomia restante sem evidência de lesão tumoral residual in situ ou invasiva (mas prosseguiu com QT)			1	RE-, RP-, CerbB2+	
35	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G3		1	RE-, RP-, CerbB2-	T2N0

36	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G3				
				1	RE-, RP-, CerbB2-	T2N0	
37	Ca apócrino invasivo	Ca ductal invasivo com componente in situ na envolvência do componente invasivo	G3/G3 para componente in situ				
				1	RE-, RP-, CerbB2-	T3N1	UQIME
38	Ca ductal *in situ* com provável lesão focal invasiva	Ca ductal *in situ* extenso, tipo apócrino	G2				
				1	RE-, RP-, CerbB2+	metastização hepática	QSEMD
39	Ca ductal invasivo		G2				
				1 + adenopatia axilar	RE+, RP-, CerbB2-	T4N+ (PET revela mestastização óssea)	
40	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo multifocal + ca ductal in situ e ca lobular in situ associados	G2				
				2	RE+, RP+, CerbB2-	T1N2Mx	

41		Ca lobular predominantemente in situ (1994); recidiva local na cicatriz de mastectomia em 1996 - ca ductal invasivo	G1	1	CerbB2- (processo mt incompleto)	PET revela mestastização hepática (ausência de metastização óssea)
42	Ca ductal invasivo		G2	tumor difuso	RE+, RP+, CerbB2-	PET revela mestastização óssea e ganglionar
43	Ca ductal invasivo com componente de ca inflamatório e focos de ca ductal in situ	Ca ductal invasivo	G2	1	RE-, RP+, CerbB2-	T4bN1Mx (classificação clínica) e ypTxN2a (classificação análise histológica)
44	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G2/G3	1	RE-, RP-, CerbB2+	T3N1M0 (estadiamento inicial); metastização disseminada na altura desta PET
45	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G2/G3	1	RE-, RP-, CerbB2+	T3N1M0 (estadiamento inicial); metastização disseminada na altura desta PET

46	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo multifocal e multicênctrico sob a forma de focos microscópicos + componente ca ductal in situ e embolização tumoral	G2	1	RE-, RP-, CerbB2+++	T2N0M0 (estadiamento inicial); PET revela recidiva local e metastização hepática, óssea, pleural		
47	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G2	2	RE-, RP-, CerbB2+++	T2N1Mx	UQEME	
48	Ca ductal invasivo com possível componente lobular invasivo associado	Ca lobular invasivo	G2	1	RE+, RP+, CerbB2-	T3N0M0		
49		Ca micropapilar invasor extenso			RE+, RP-, CerbB2+ (score 3), Ki67 reactivo em mais de 50% das células neoplásicas (alta proliferação), p53 reactivo em cerca de 5 a 10% das células neoplásicas	pT3N1		
50	Ca ductal invasivo (recidiva)	Ca ductal invasivo (recidiva)	G2	1	RE-, RP-, CerbB2+	PET sugere apenas recidiva local		

51	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G2	1	RE+, RP+, CerbB2+++	T3N1M0	
52	Ca ductal invasivo (mama dta.), moderadamente diferenciado, provavelmente de diferenciação apócrina	ausência de tumor invasivo residual mas com foco de ca ductal in situ de baixo grau (G1)	G2	2	RE-, RP-, CerbB2+++	PET levanta suspeita de ca mamário bilateral; ausência de metastização ganglionar nos 17 gânglios excisados	
53	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo e componente in situ	G2/G3	2	RE+, RP+, CerbB2-	ypT1cN2a	
54	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G2	1	RE-, RP-, CerbB2+++	T3N1M0	QSEME
55	Ca ductal invasivo (mama dta.)	Ca ductal invasivo (mama dta.)	G2/G3	lesões de ectasia ductal exuberante e com focos de microcalcificações distróficas	RE+, RP+++, CerbB2+	pT1cN0	

56	Ca ductal invasivo		G2/G3	formação tumoral pétrea	RE+, RP+, CerbB2 duvidoso	PET sugere mestastização ganglionar axilar homolateral, bronco hilar e pulmonar, infraclavicular e jugular, do mediastino e tiroideia	
57	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo com componente metaplásico	G3	1	RE+, RP-, CerbB2-	T2N3M1 (estadio IV)	retro-mamilar
58	ausência de resposta à QT						
59	Ca ductal invasivo		G2	bilateral	RE-, RP-, CerbB2-	mestastização óssea e pulmonar disseminadas	mama dta. pétrea e mama esq. com empastamento do QS
60	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	G2	1	RE+, RP++, CerbB2+++	T4bN1M0	QSIME

61	Ca invasivo de alto grau (ca ductal invasivo em cicatriz de mastectomia da mama esq.)	Ca ductal invasivo presença de abundantes embolias vasculares intramamárias		multifocal	RE+, RP+, CerbB2- (recidiva com RE+, RP-, CerB2-)	T4bN1M0 (estadiamento inicial, em 2002); PET revela recidiva na axila esq com extensão à musculatura adjacente, envolvimento ganglionar secundário mediastínico e metastização óssea/medular disseminada	retromamilar
62	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo com componente de ca ductal in situ	G3	1	RE+, RP+, CerbB2-	T1N1M0	QSEMD
63	Ca ductal invasivo	lesão tumoral com infiltrado inflamatório, proliferação neocapilar, escasso tumor viável com componente in situ e invasivo	G2/G3	1	RE+, RP+, CerbB2-	T2N1	UQSME
64	Ca ductal invasivo com diferenciação focal mucinosa	Ca ductal invasivo e compionente de ca ductal in situ	G2/G3	1	RE+, RP+, CerbB2-	T4bN0M1	região central ME
65	Papiloma atípico/Ca papilar intraquístico variante sólida; tumorectomia: ca ductal in situcom padrão sólido	recidiva de Ca ductal invasivo em 2010	G1	2 na recidiva	RE+, RP+, CerbB2-	PET sugere recidiva com 2 focos tumorais	UQSMD

66	Ca lobular invasivo	Ca lobular invasivo pleomórfico com componente de ca lobular in situ e ductal in situ	G3	multifocal	RE+, RP+, CerbB2++	T2N1M0	QSE, UQS, QSI - ME
67	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G1			T3Nx com metastização óssea, hepática	
68	Ca ductal invasivo (mama esq.)	Ca ductal invasivo (mama esq.)	G2		RE+, CerbB2-	T2N0 (estadiamento inicial); PET revela metastização mama dta, metastização óssea disseminada e hepática	
69	Ca lobular invasivo	Ca lobular invasivo acompanhado de lesões extensas de ca lobular in situ		multifocal	RE+, RP+, CerbB2-	pT2N1a	QSEMD (1º nódulo detectado)
70	Ca mucinoso invasivo	Ca mucinoso invasivo com componente ductal in situ com padrão micropapilar NOS	G1/G2	abundante tumor	RE+, RP+, CerbB2-	T3N2a com metastização cerebral, óssea e pulmonar	UQEMD até à região retro-mamilar

71	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G3		multifocal	RE-, RP+, CerbB2+	T3N2M0	
72	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G2/G3		1	RE-, RP-, CerbB2-	ypT1cN2a	UQEMD
73	recidiva de ca ductal invasivo							recidiva justa cicatricial
74	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G2/G3		1	RE+, RP-, CerbB2+	T3N1	QSEMD
75								

76	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo e componente in situ				T2N1	UQIMD
77	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo e componente in situ	G2	1	RE++, RP+++, CerbB2-	gânglio sentinela metastizado; PET revela envolvimento ganglionar secundário	QSEME
78	Ca ductal invasivo	Ca ductal invasivo	G2	1	RE+, RP-, CerbB2+++	2 gânglios axilares metastizados	QSEME
79	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Ca invasivo metaplásico com diferenciação mixocondróide, cartilagínea e óssea	G3	lesão tumoral abrangendo difusamento toda a mama	RE-, RP-, E-caderina+, vimentina+, panqueratina+, queratina de alto peso molecular+	T3N3aMxV1	lesão tumoral abrangendo difusamento toda a mama dta.

Anexo 6. Análise descritiva dos resultados relativos à captação de ^{18}F-FDG em tumores primitivos ou recidiva local de cancro da mama, em estudos PET/CT, pré terapêutica sistémica

Explore

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
IDADE	79	100,0%	0	,0%	79	100,0%

Descriptives

			Statistic	Std. Error
IDADE	Mean		55,87	1,530
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	52,83	
		Upper Bound	58,92	
	5% Trimmed Mean		55,73	
	Median		55,00	
	Variance		185,009	
	Std. Deviation		13,602	
	Minimum		30	
	Maximum		83	
	Range		53	
	Interquartile Range		20	
	Skewness		,116	,271
	Kurtosis		-,867	,535

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Biópsia2 * An_Hist2	73	92,4%	6	7,6%	79	100,0%

Biópsia2 * An_Hist2 Crosstabulation

			An_Hist2			
			Invasivo	In situ	Mistos	Total
Biópsia2	Invasivo	Count	43	0	17	60
		% within Biópsia2	71,7%	,0%	28,3%	100,0%
		% within An_Hist2	89,6%	,0%	77,3%	82,2%
	Mistos	Count	5	3	5	13
		% within Biópsia2	38,5%	23,1%	38,5%	100,0%
		% within An_Hist2	10,4%	100,0%	22,7%	17,8%
Total		Count	48	3	22	73
		% within Biópsia2	65,8%	4,1%	30,1%	100,0%
		% within An_Hist2	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error[a]	Approx. T[b]	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	,156	,101	1,553	,120
N of Valid Cases		73			

a. Not assuming the null hypothesis.
b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Biópsia * Análise Histologia	73	92,4%	6	7,6%	79	100,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia	
			Ca ductal invasivo	Ca lobular invasivo
Biópsia	Ca ductal invasivo	Count	32	0
		% within Biópsia	69,6%	,0%
		% within Análise Histologia	84,2%	,0%
	Ca lobular invasivo	Count	0	4
		% within Biópsia	,0%	66,7%
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
	Ca mucinoso invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca micropapilar invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca apócrino invasivo	Count	1	0
		% within Biópsia	50,0%	,0%
		% within Análise Histologia	2,6%	,0%
	Ca invasivo indefinido	Count	1	0
		% within Biópsia	100,0%	,0%
		% within Análise Histologia	2,6%	,0%
	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca invasivo com componente in situ	Count	1	0
		% within Biópsia	25,0%	,0%
		% within Análise Histologia	2,6%	,0%
	Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com componente de ca inflamatório e focos de ca ductal in situ	Count	1	0
		% within Biópsia	50,0%	,0%
		% within Análise Histologia	2,6%	,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia	
			Ca mucinoso invasivo	Ca micropapilar invasivo
Biópsia	Ca ductal invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca lobular invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca mucinoso invasivo	Count	1	0
		% within Biópsia	33,3%	,0%
		% within Análise Histologia	100,0%	,0%
	Ca micropapilar invasivo	Count	0	1
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
	Ca apócrino invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca invasivo indefinido	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca invasivo com componente in situ	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com componente de ca inflamatório e focos de ca ductal in situ	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia	
			Ca apócrino invasivo	Ca invasivo indefinido
Biópsia	Ca ductal invasivo	Count	1	1
		% within Biópsia	2,2%	2,2%
		% within Análise Histologia	100,0%	100,0%
	Ca lobular invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca mucinoso invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca micropapilar invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca apócrino invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca invasivo indefinido	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca invasivo com componente in situ	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com componente de ca inflamatório e focos de ca ductal in situ	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia	
			Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Ca inflamatório
Biópsia	Ca ductal invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca lobular invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca mucinoso invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca micropapilar invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca apócrino invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca invasivo indefinido	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Count	1	0
		% within Biópsia	100,0%	,0%
		% within Análise Histologia	100,0%	,0%
	Ca invasivo com componente in situ	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com componente de ca inflamatório e focos de ca ductal in situ	Count	0	1
		% within Biópsia	,0%	50,0%
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia	
			Ca ductal in situ	Ca invasivo com componente in situ
Biópsia	Ca ductal invasivo	Count	0	9
		% within Biópsia	,0%	19,6%
		% within Análise Histologia	,0%	56,3%
	Ca lobular invasivo	Count	0	2
		% within Biópsia	,0%	33,3%
		% within Análise Histologia	,0%	12,5%
	Ca mucinoso invasivo	Count	0	1
		% within Biópsia	,0%	33,3%
		% within Análise Histologia	,0%	6,3%
	Ca micropapilar invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca apócrino invasivo	Count	0	1
		% within Biópsia	,0%	50,0%
		% within Análise Histologia	,0%	6,3%
	Ca invasivo indefinido	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca invasivo com componente in situ	Count	1	2
		% within Biópsia	25,0%	50,0%
		% within Análise Histologia	33,3%	12,5%
	Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Count	1	0
		% within Biópsia	100,0%	,0%
		% within Análise Histologia	33,3%	,0%
	Ca ductal invasivo com componente de ca inflamatório e focos de ca ductal in situ	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia	
			Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo
Biópsia	Ca ductal invasivo	Count	1	0
		% within Biópsia	2,2%	,0%
		% within Análise Histologia	100,0%	,0%
	Ca lobular invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca mucinoso invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca micropapilar invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca apócrino invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca invasivo indefinido	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca invasivo com componente in situ	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com componente de ca inflamatório e focos de ca ductal in situ	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia
			Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso
Biópsia	Ca ductal invasivo	Count	0
		% within Biópsia	,0%
		% within Análise Histologia	,0%
	Ca lobular invasivo	Count	0
		% within Biópsia	,0%
		% within Análise Histologia	,0%
	Ca mucinoso invasivo	Count	1
		% within Biópsia	33,3%
		% within Análise Histologia	50,0%
	Ca micropapilar invasivo	Count	0
		% within Biópsia	,0%
		% within Análise Histologia	,0%
	Ca apócrino invasivo	Count	0
		% within Biópsia	,0%
		% within Análise Histologia	,0%
	Ca invasivo indefinido	Count	0
		% within Biópsia	,0%
		% within Análise Histologia	,0%
	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Count	0
		% within Biópsia	,0%
		% within Análise Histologia	,0%
	Ca invasivo com componente in situ	Count	0
		% within Biópsia	,0%
		% within Análise Histologia	,0%
	Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Count	0
		% within Biópsia	,0%
		% within Análise Histologia	,0%
	Ca ductal invasivo com componente de ca inflamatório e focos de ca ductal in situ	Count	0
		% within Biópsia	,0%
		% within Análise Histologia	,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia	
			Ca ductal invasivo com componente metaplásico	Total
Biópsia	Ca ductal invasivo	Count	2	46
		% within Biópsia	4,3%	100,0%
		% within Análise Histologia	100,0%	63,0%
	Ca lobular invasivo	Count	0	6
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	8,2%
	Ca mucinoso invasivo	Count	0	3
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	4,1%
	Ca micropapilar invasivo	Count	0	1
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	1,4%
	Ca apócrino invasivo	Count	0	2
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	2,7%
	Ca invasivo indefinido	Count	0	1
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	1,4%
	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Count	0	1
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	1,4%
	Ca invasivo com componente in situ	Count	0	4
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	5,5%
	Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Count	0	1
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	1,4%
	Ca ductal invasivo com componente de ca inflamatório e focos de ca ductal in situ	Count	0	2
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	2,7%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia	
			Ca ductal invasivo	Ca lobular invasivo
Biópsia	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com diferenciação focal mucinosa	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com componente apócrina associada	Count	2	0
		% within Biópsia	66,7%	,0%
		% within Análise Histologia	5,3%	,0%
Total		Count	38	4
		% within Biópsia	52,1%	5,5%
		% within Análise Histologia	100,0%	100,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia	
			Ca mucinoso invasivo	Ca micropapilar invasivo
Biópsia	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com diferenciação focal mucinosa	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com componente apócrina associada	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
Total		Count	1	1
		% within Biópsia	1,4%	1,4%
		% within Análise Histologia	100,0%	100,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia	
			Ca apócrino invasivo	Ca invasivo indefinido
Biópsia	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com diferenciação focal mucinosa	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com componente apócrina associada	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
Total		Count	1	1
		% within Biópsia	1,4%	1,4%
		% within Análise Histologia	100,0%	100,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia	
			Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Ca inflamatório
Biópsia	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com diferenciação focal mucinosa	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com componente apócrina associada	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
Total		Count	1	1
		% within Biópsia	1,4%	1,4%
		% within Análise Histologia	100,0%	100,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia	
			Ca ductal in situ	Ca invasivo com componente in situ
Biópsia	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com diferenciação focal mucinosa	Count	0	1
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	6,3%
	Ca ductal invasivo com componente apócrina associada	Count	1	0
		% within Biópsia	33,3%	,0%
		% within Análise Histologia	33,3%	,0%
Total		Count	3	16
		% within Biópsia	4,1%	21,9%
		% within Análise Histologia	100,0%	100,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia	
			Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo
Biópsia	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo	Count	0	1
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com diferenciação focal mucinosa	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
	Ca ductal invasivo com componente apócrina associada	Count	0	0
		% within Biópsia	,0%	,0%
		% within Análise Histologia	,0%	,0%
Total		Count	1	1
		% within Biópsia	1,4%	1,4%
		% within Análise Histologia	100,0%	100,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia
			Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso
Biópsia	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo	Count	0
		% within Biópsia	,0%
		% within Análise Histologia	,0%
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Count	1
		% within Biópsia	100,0%
		% within Análise Histologia	50,0%
	Ca ductal invasivo com diferenciação focal mucinosa	Count	0
		% within Biópsia	,0%
		% within Análise Histologia	,0%
	Ca ductal invasivo com componente apócrina associada	Count	0
		% within Biópsia	,0%
		% within Análise Histologia	,0%
Total		Count	2
		% within Biópsia	2,7%
		% within Análise Histologia	100,0%

Biópsia * Análise Histologia Crosstabulation

			Análise Histologia	
			Ca ductal invasivo com componente metaplásico	Total
Biópsia	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo	Count	0	1
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	1,4%
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Count	0	1
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	1,4%
	Ca ductal invasivo com diferenciação focal mucinosa	Count	0	1
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	1,4%
	Ca ductal invasivo com componente apócrina associada	Count	0	3
		% within Biópsia	,0%	100,0%
		% within Análise Histologia	,0%	4,1%
Total		Count	2	73
		% within Biópsia	2,7%	100,0%
		% within Análise Histologia	100,0%	100,0%

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error[a]	Approx. T[b]	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	,371	,076	7,075	,000
N of Valid Cases		73			

a. Not assuming the null hypothesis.
b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Análise Histologia * Receptores Estrogéneo	72	91,1%	7	8,9%	79	100,0%
Análise Histologia * Receptores Progesterona	70	88,6%	9	11,4%	79	100,0%
Análise Histologia * HER 2	72	91,1%	7	8,9%	79	100,0%
An_Hist2 * Receptores Estrogéneo	72	91,1%	7	8,9%	79	100,0%
An_Hist2 * Receptores Progesterona	70	88,6%	9	11,4%	79	100,0%
An_Hist2 * HER 2	72	91,1%	7	8,9%	79	100,0%

Análise Histologia * Receptores Estrogéneo

Crosstab

			Receptores Estrogéneo	
			Não	Sim
Análise Histologia	Ca ductal invasivo	Count	13	25
		% within Análise Histologia	34,2%	65,8%
		% within Receptores Estrogéneo	65,0%	48,1%
	Ca lobular invasivo	Count	0	4
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	,0%	7,7%
	Ca mucinoso invasivo	Count	0	1
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	,0%	1,9%
	Ca micropapilar invasivo	Count	0	1
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	,0%	1,9%
	Ca apócrino invasivo	Count	1	0
		% within Análise Histologia	100,0%	,0%
		% within Receptores Estrogéneo	5,0%	,0%
	Ca invasivo indefinido	Count	0	1
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	,0%	1,9%
	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Count	1	0
		% within Análise Histologia	100,0%	,0%
		% within Receptores Estrogéneo	5,0%	,0%
	Ca inflamatório	Count	1	0
		% within Análise Histologia	100,0%	,0%
		% within Receptores Estrogéneo	5,0%	,0%
	Ca ductal in situ	Count	2	1
		% within Análise Histologia	66,7%	33,3%
		% within Receptores Estrogéneo	10,0%	1,9%
	Ca invasivo com componente in situ	Count	2	13

Crosstab

			Total
Análise Histologia	Ca ductal invasivo	Count	38
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	52,8%
	Ca lobular invasivo	Count	4
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	5,6%
	Ca mucinoso invasivo	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	1,4%
	Ca micropapilar invasivo	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	1,4%
	Ca apócrino invasivo	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	1,4%
	Ca invasivo indefinido	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	1,4%
	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	1,4%
	Ca inflamatório	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	1,4%
	Ca ductal in situ	Count	3
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	4,2%
	Ca invasivo com componente in situ	Count	15

Crosstab

			Receptores Estrogéneo	
			Não	Sim
Análise Histologia	Ca invasivo com componente in situ	% within Análise Histologia	13,3%	86,7%
		% within Receptores Estrogéneo	10,0%	25,0%
	Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Count	0	1
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	,0%	1,9%
	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo	Count	0	1
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	,0%	1,9%
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Count	0	2
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	,0%	3,8%
	Ca ductal invasivo com componente metaplásico	Count	0	2
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	,0%	3,8%
Total		Count	20	52
		% within Análise Histologia	27,8%	72,2%
		% within Receptores Estrogéneo	100,0%	100,0%

Crosstab

			Total
Análise Histologia	Ca invasivo com componente in situ	% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	20,8%
	Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	1,4%
	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	1,4%
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Count	2
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	2,8%
	Ca ductal invasivo com componente metaplásico	Count	2
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	2,8%
Total		Count	72
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	100,0%

Análise Histologia * Receptores Progesterona

Crosstab

			Receptores Progesterona
			Não
Análise Histologia	Ca ductal invasivo	Count	16
		% within Análise Histologia	44,4%
		% within Receptores Progesterona	55,2%
	Ca lobular invasivo	Count	2
		% within Análise Histologia	50,0%
		% within Receptores Progesterona	6,9%
	Ca mucinoso invasivo	Count	0
		% within Análise Histologia	,0%
		% within Receptores Progesterona	,0%
	Ca micropapilar invasivo	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Progesterona	3,4%
	Ca apócrino invasivo	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Progesterona	3,4%
	Ca invasivo indefinido	Count	0
		% within Análise Histologia	,0%
		% within Receptores Progesterona	,0%
	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Progesterona	3,4%
	Ca inflamatório	Count	0
		% within Análise Histologia	,0%
		% within Receptores Progesterona	,0%
	Ca ductal in situ	Count	2
		% within Análise Histologia	66,7%
		% within Receptores Progesterona	6,9%
	Ca invasivo com componente in situ	Count	3

Crosstab

			Receptores Progesterona	
			Sim	Total
Análise Histologia	Ca ductal invasivo	Count	20	36
		% within Análise Histologia	55,6%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	48,8%	51,4%
	Ca lobular invasivo	Count	2	4
		% within Análise Histologia	50,0%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	4,9%	5,7%
	Ca mucinoso invasivo	Count	1	1
		% within Análise Histologia	100,0%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	2,4%	1,4%
	Ca micropapilar invasivo	Count	0	1
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	,0%	1,4%
	Ca apócrino invasivo	Count	0	1
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	,0%	1,4%
	Ca invasivo indefinido	Count	1	1
		% within Análise Histologia	100,0%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	2,4%	1,4%
	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Count	0	1
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	,0%	1,4%
	Ca inflamatório	Count	1	1
		% within Análise Histologia	100,0%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	2,4%	1,4%
	Ca ductal in situ	Count	1	3
		% within Análise Histologia	33,3%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	2,4%	4,3%
	Ca invasivo com componente in situ	Count	12	15

Crosstab

			Receptores Progesterona
			Não
Análise Histologia	Ca invasivo com componente in situ	% within Análise Histologia	20,0%
		% within Receptores Progesterona	10,3%
	Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Progesterona	3,4%
	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo	Count	0
		% within Análise Histologia	,0%
		% within Receptores Progesterona	,0%
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Count	0
		% within Análise Histologia	,0%
		% within Receptores Progesterona	,0%
	Ca ductal invasivo com componente metaplásico	Count	2
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within Receptores Progesterona	6,9%
Total		Count	29
		% within Análise Histologia	41,4%
		% within Receptores Progesterona	100,0%

Crosstab

			Receptores Progesterona	
			Sim	Total
Análise Histologia	Ca invasivo com componente in situ	% within Análise Histologia	80,0%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	29,3%	21,4%
	Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Count	0	1
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	,0%	1,4%
	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo	Count	1	1
		% within Análise Histologia	100,0%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	2,4%	1,4%
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Count	2	2
		% within Análise Histologia	100,0%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	4,9%	2,9%
	Ca ductal invasivo com componente metaplásico	Count	0	2
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	,0%	2,9%
Total		Count	41	70
		% within Análise Histologia	58,6%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	100,0%	100,0%

Análise Histologia * HER 2

Crosstab

			HER 2	
			Não	Sim
Análise Histologia	Ca ductal invasivo	Count	21	17
		% within Análise Histologia	55,3%	44,7%
		% within HER 2	45,7%	65,4%
	Ca lobular invasivo	Count	4	0
		% within Análise Histologia	100,0%	,0%
		% within HER 2	8,7%	,0%
	Ca mucinoso invasivo	Count	1	0
		% within Análise Histologia	100,0%	,0%
		% within HER 2	2,2%	,0%
	Ca micropapilar invasivo	Count	0	1
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within HER 2	,0%	3,8%
	Ca apócrino invasivo	Count	1	0
		% within Análise Histologia	100,0%	,0%
		% within HER 2	2,2%	,0%
	Ca invasivo indefinido	Count	1	0
		% within Análise Histologia	100,0%	,0%
		% within HER 2	2,2%	,0%
	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Count	1	0
		% within Análise Histologia	100,0%	,0%
		% within HER 2	2,2%	,0%
	Ca inflamatório	Count	1	0
		% within Análise Histologia	100,0%	,0%
		% within HER 2	2,2%	,0%
	Ca ductal in situ	Count	1	2
		% within Análise Histologia	33,3%	66,7%
		% within HER 2	2,2%	7,7%
	Ca invasivo com componente in situ	Count	11	4
		% within Análise Histologia	73,3%	26,7%
		% within HER 2	23,9%	15,4%

Crosstab

			Total
Análise Histologia	Ca ductal invasivo	Count	38
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	52,8%
	Ca lobular invasivo	Count	4
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	5,6%
	Ca mucinoso invasivo	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	1,4%
	Ca micropapilar invasivo	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	1,4%
	Ca apócrino invasivo	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	1,4%
	Ca invasivo indefinido	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	1,4%
	Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	1,4%
	Ca inflamatório	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	1,4%
	Ca ductal in situ	Count	3
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	4,2%
	Ca invasivo com componente in situ	Count	15
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	20,8%

Crosstab

			HER 2	
			Não	Sim
Análise Histologia	Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Count	0	1
		% within Análise Histologia	,0%	100,0%
		% within HER 2	,0%	3,8%
	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo	Count	1	0
		% within Análise Histologia	100,0%	,0%
		% within HER 2	2,2%	,0%
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Count	1	1
		% within Análise Histologia	50,0%	50,0%
		% within HER 2	2,2%	3,8%
	Ca ductal invasivo com componente metaplásico	Count	2	0
		% within Análise Histologia	100,0%	,0%
		% within HER 2	4,3%	,0%
Total		Count	46	26
		% within Análise Histologia	63,9%	36,1%
		% within HER 2	100,0%	100,0%

Crosstab

			Total
Análise Histologia	Ca ductal in situ com lesão focal invasiva	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	1,4%
	Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo	Count	1
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	1,4%
	Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso	Count	2
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	2,8%
	Ca ductal invasivo com componente metaplásico	Count	2
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	2,8%
Total		Count	72
		% within Análise Histologia	100,0%
		% within HER 2	100,0%

An_Hist2 * Receptores Estrogéneo

Crosstab

			Receptores Estrogéneo		
			Não	Sim	Total
An_Hist2	Invasivo	Count	16	32	48
		% within An_Hist2	33,3%	66,7%	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	80,0%	61,5%	66,7%
	In situ	Count	2	1	3
		% within An_Hist2	66,7%	33,3%	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	10,0%	1,9%	4,2%
	Mistos	Count	2	19	21
		% within An_Hist2	9,5%	90,5%	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	10,0%	36,5%	29,2%
Total		Count	20	52	72
		% within An_Hist2	27,8%	72,2%	100,0%
		% within Receptores Estrogéneo	100,0%	100,0%	100,0%

An_Hist2 * Receptores Progesterona

Crosstab

			Receptores Progesterona		
			Não	Sim	Total
An_Hist2	Invasivo	Count	21	25	46
		% within An_Hist2	45,7%	54,3%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	72,4%	61,0%	65,7%
	In situ	Count	2	1	3
		% within An_Hist2	66,7%	33,3%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	6,9%	2,4%	4,3%
	Mistos	Count	6	15	21
		% within An_Hist2	28,6%	71,4%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	20,7%	36,6%	30,0%
Total		Count	29	41	70
		% within An_Hist2	41,4%	58,6%	100,0%
		% within Receptores Progesterona	100,0%	100,0%	100,0%

An_Hist2 * HER 2

Crosstab

			HER 2		
			Não	Sim	Total
An_Hist2	Invasivo	Count	30	18	48
		% within An_Hist2	62,5%	37,5%	100,0%
		% within HER 2	65,2%	69,2%	66,7%
	In situ	Count	1	2	3
		% within An_Hist2	33,3%	66,7%	100,0%
		% within HER 2	2,2%	7,7%	4,2%
	Mistos	Count	15	6	21
		% within An_Hist2	71,4%	28,6%	100,0%
		% within HER 2	32,6%	23,1%	29,2%
Total		Count	46	26	72
		% within An_Hist2	63,9%	36,1%	100,0%
		% within HER 2	100,0%	100,0%	100,0%

Explore

Receptores Estrogéneo

Case Processing Summary

		Cases		
		Valid		Missing
	Receptores Estrogéneo	N	Percent	N
SUV MAX.	Não	22	95,7%	1
	Sim	52	94,5%	3

Case Processing Summary

		Cases		
		Missing	Total	
	Receptores Estrogéneo	Percent	N	Percent
SUV MAX.	Não	4,3%	23	100,0%
	Sim	5,5%	55	100,0%

Descriptives

	Receptores Estrogéneo			Statistic	Std. Error
SUV MAX.	Não	Mean		11,273	2,8808
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	5,282	
			Upper Bound	17,264	
		5% Trimmed Mean		8,971	
		Median		6,950	
		Variance		182,578	
		Std. Deviation		13,5122	
		Minimum		1,6	
		Maximum		66,3	
		Range		64,7	
		Interquartile Range		7,8	
		Skewness		3,497	,491
		Kurtosis		14,063	,953
	Sim	Mean		6,635	,9729
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	4,682	
			Upper Bound	8,588	
		5% Trimmed Mean		5,695	
		Median		4,200	
		Variance		49,215	
		Std. Deviation		7,0154	
		Minimum		1,5	
		Maximum		48,2	
		Range		46,7	
		Interquartile Range		5,4	
		Skewness		4,329	,330
		Kurtosis		24,276	,650

Receptores Progesterona

Case Processing Summary

		Cases			
		Valid		Missing	
	Receptores Progesterona	N	Percent	N	
SUV MAX.	Não	32	100,0%	0	
	Sim	42	95,5%	2	

Case Processing Summary

		Cases		
		Missing	Total	
	Receptores Progesterona	Percent	N	Percent
SUV MAX.	Não	,0%	32	100,0%
	Sim	4,5%	44	100,0%

Descriptives

	Receptores Progesterona			Statistic	Std. Error
SUV MAX.	Não	Mean		9,700	2,0674
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	5,483	
			Upper Bound	13,917	
		5% Trimmed Mean		7,910	
		Median		6,550	
		Variance		136,778	
		Std. Deviation		11,6952	
		Minimum		1,6	
		Maximum		66,3	
		Range		64,7	
		Interquartile Range		7,9	
		Skewness		3,905	,414
		Kurtosis		18,310	,809
	Sim	Mean		6,729	1,1497
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	4,407	
			Upper Bound	9,050	
		5% Trimmed Mean		5,681	
		Median		4,200	
		Variance		55,517	
		Std. Deviation		7,4510	
		Minimum		1,5	
		Maximum		48,2	
		Range		46,7	
		Interquartile Range		5,5	
		Skewness		4,421	,365
		Kurtosis		24,001	,717

HER 2

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
	HER 2	N	Percent	N	Percent	N	Percent
SUV MAX.	Não	47	95,9%	2	4,1%	49	100,0%
	Sim	27	96,4%	1	3,6%	28	100,0%

Descriptives

	HER 2			Statistic	Std. Error
SUV MAX.	Não	Mean		8,532	1,4637
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	5,586	
			Upper Bound	11,478	
		5% Trimmed Mean		7,127	
		Median		5,700	
		Variance		100,690	
		Std. Deviation		10,0344	
		Minimum		1,5	
		Maximum		66,3	
		Range		64,8	
		Interquartile Range		6,2	
		Skewness		4,393	,347
		Kurtosis		24,218	,681
	Sim	Mean		7,111	1,6923
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,633	
			Upper Bound	10,590	
		5% Trimmed Mean		5,653	
		Median		5,500	
		Variance		77,320	
		Std. Deviation		8,7932	
		Minimum		1,6	
		Maximum		48,2	
		Range		46,6	
		Interquartile Range		5,4	
		Skewness		4,185	,448
		Kurtosis		19,780	,872

Anexo 7. Análise descritiva dos resultados relativos à captação de ^{18}F-FDG em tumores primitivos ou recidiva local de cancro da mama, incluindo distribuição de $SUV_{máx}$ e $SUV_{médio}$, número de nódulos e quadrantes envolvidos, classificação TNM e grau de diferenciação de Bloom.

IDADE	BIÓPSIA	AN_HIST	GRAU DIF	N.º NÓD	RE	RP	HER2	T	N	M	Localiz Sec	QUADRANTES	SUV MAX.	SUV MEDIO
53	34	34	2	1	1	1	0	3	0	0		31	1.5	0.9
51	37		2	1	0	0	1	0	0	1	15	32	1.6	0.9
44	12	31	3	3	1	1	1	2	10	0		33	1.8	1.2
45	31	21	1	2	1	1	0	0	40	1	17	10	1.9	0.9
53	11	11	2	1	1	1	1	3	10	1	16	11	1.9	1.1
80	31	31	1	2	1	1	0	1	10	0		15	2	0.9
49	14	14		4	1	0	1	3	10	0		34	2	1.2
36	11	11	3	1	1	1	1	3	20	1	16	10	2.1	1.2
58	32	21	2	1	0	0	1	3	10	1	16	36	2.2	1.5
65	11	11	2	1	1	0	0	0	10	1	16	15	2.4	0.8
40	11	11	2	2	1	2	0	0	40	1	16	15	2.5	1.7
77	13	13		1	1	1	0	0	40	1	16	38	2.5	1.3
52	11	11	2	1	1	1	1	3	10	1	16	11	2.6	1.6
71	11	16	1	1	1	1	0	1	0	1	10	10	2.9	1.6
35	11	31		1	2	2	2	2	13	0		20	2.9	1.8
36	11	11	2	1	1	1	0	1	40	1	15	17	2.9	1.5
52	11	31	2	1	0	0	1	2	0	1	16	30	2.9	1.8
41	12	31		3	1	1	0	2	11	0		16	2.9	1.4
66	11	31	23	1	1	0	0	2	20	0		36	3.2	2.1
51	37	21	1	2	0	0	1	0	20	1	16	15	3.4	2.1
58	11	11	2	1	1	0	0	4	40	1	16	38	3.4	1.6
83	11	11	2	1	1	1	1	2	10	1	16	10	3.5	1.6
72	12	12	12	2	1	0	0	1	10	0		19	3.5	1.9
60	12	12		1	1	1	0	0	40	1	10	30	3.5	2.3
57	11	11	2	1	1	1	0	0	30	1	16	10	3.6	2.5
46	11	31	3	1	1	1	0	1	10	0		16	3.6	2.2
66	11	11	1	1	0	0	0	3	11	0		16	3.6	2
46	11	11	2	1	1	1	0	0	40	1	16	11	3.7	1.4
51	11	31	3	2	1	1	0	1	21	0		37	3.8	1.8
71	11	11	1	3	1	1	0	2	11	0		17	3.9	2.6
37	13	35	12	1	1	1	0	3	21	1	16	19	4	2
71	11	11	2	1	1	1	0	1	40	0		36	4.1	1.7
62	11	31	2	3	1	1	1	2	0	1	16	21	4.1	2.2
81	12			1	1	1	0	0	40	1	16	31	4.3	2.7
61	11	11	3	1	1	1	0	2	21	0		41	4.3	1.9
60	11			1	0	0	1	0	30	0		17	4.8	2.7
67	11	11	23	1	0	2	1	4	10	1	17	30	5	2.6
37	11	11	23	3	1	0	1	4	10	0		36	5	2.6

IDADE	BIÓPSIA	AN_HIST	GRAU DIF	N.º NÓD	RE	RP	HER2	T	N	M	Localiz Sec	QUADRANTES	SUV MAX.	SUV MEDIO
62	11	11	1	1	1	1	0	1	0	0		21	5	2.4
36	37	11	3	3	0	0	1	3	20	1	12	11	5.5	1.6
65	31	11	3	1	1	1	1	3	21	0		36	5.6	3.1
80	12	12		1	1	1	0	4	30	1	16	31	5.7	2.6
42	11	32	2	2	1	0	1	0	21	1	16	39	6	2.7
64	11	11	2	1	1	1	1	1	11	0		41	6.2	2.9
73	15		2	1	0	0	0	0	40	1	16	15	6.5	4
46	11	11	2	1	0	0	0	4	40	1	16	33	6.5	2.4
72	12	12	12	2	1	0	0	1	10	0		21	6.6	3.3
30	17	17	3	1	0	0	0	3	30	0		11	6.7	3.7
55	11	11	23	3	0	0	1	4	10	1	16	10	6.9	3.9
81	31	31	2	1	1	1	0	3	40	1	16	33	7	3.1
50	15	11	2	1	0	0	1	3	10	0		36	7	2.6
36	11	11	2	1	1	1	1	1	40	1	15	15	7.5	3
58	11	31	2	3	1	1	0	1	21	0		18	7.9	3.6
53	11	11	2	2	0	0	1	2	20	0		39	8	3.5
68	11	11	2	1	1	1	0	2	11	0		15	8.3	3.8
45	36	31	3	3	1	1	0	4	10	1	10	31	8.4	2.6
37	11	11	3	1	0	0	0	1	21	0		19	8.6	4.6
48	35	35	2	1	1	1	1	4	10	0		37	8.6	4.4
76	11		2	1	1	1	0	3	20	1	16	32	9	5.1
43	11	11	1	1	1	1	0	3	40	1	10	21	9.6	5.3
45	11	31	23	1	1	1	0	2	10	0		41	9.7	4.2
32	11	11	2	1	1	0	1	0	20	0		36	10.5	6.8
52	11	11	2	1	0	0	1	1	40	0		40	10.5	5.9
51	37	11	2	3	0	0	1	0	20	1	15	19	11.6	6.7
57	33	18	2	1	0	1	0	4	10	0		30	11.8	5
35	11	31	2	1	1	1	1	1	30	1	14	36	12	6.4
66	11	11	2	3	1	1	0	2	30	1	14	33	12.1	4.1
49	11	38	3	1	1	0	0	3	30	1	14	38	13.4	6.4
56	33	11	2	1	0	1	0	4	10	1	14	38	13.8	6.1
61	13	31	2	1	1	1	0	4	21	0		18	14.8	4.7
50	11		23	1	1	1	2	4	30	1	16	31	14.9	11.9
72	11	11	2	1	1	0	0	3	30	1	16	20	15.4	9.3
50	11	38	3	1	1	0	0	3	30	1	14	32	16.6	7.8
58	15	31	3	1	0	0	0	3	10	1	16	40	18.4	11.3
70	11	15	3	1	0	0	0	4	20	1	16	31	18.9	9.8
74	11	11	23	1	0	0	0	3	10	1	14	19	22.5	8

IDADE	BIÓPSIA	AN_HIST	GRAU DIF	N.º NÓD	RE	RP	HER2	T	N	M	Localiz Sec	QUADRANTES	SUV MAX.	SUV MEDIO
71	11	11	2	3	1	1	1	2	10	1	16	10	48.2	16.2
58	11	11	3	1	0	0	0	4	30	0		11	66.3	32.4
46	16	11		3	1	1	0	4	10	1	16	38		

Tipo Histológico Tumor	1	invasivos	11 Ca ductal invasivo
			12 Ca lobular invasivo
			13 Ca mucinoso invasivo
			14 Ca micropapilar invasivo
			15 Ca apócrino invasivo
			16 Ca invasivo indefinido
			17 Ca metaplásico com produção de matriz mixocondróide
			18 Ca inflamatório
	2	in situ	21 Ca ductal in situ
	3	mistos	31 Ca invasivo com componente in situ
			32 invasiva
			33 de ca inflamatório e focos de ca ductal in situ
			34 Ca ductal invasivo com componente lobular invasivo
			35 Ca invasivo, misto, NOS e mucinoso
			36 Ca ductal invasivo com diferenciação focal mucinosa
			37 Ca ductal invasivo com componente apócrina associada
			38 metaplásico

Grau Diferenciação	1	G1
	2	G2
	3	G3
	12	G1/G2
	23	G2/G3

N.º Nódulos	1	1
	2	2
	3	multifocal
	4	indefinido

Presença de Receptores	0	Não
	1	Sim
	2	Sem Inf.

Classificação TNM	T	0	indeterminado		
		1	T1		
		2	T2		
		3	T3		
		4	T4		
	N	0	N0		
		10	N1	10	1
				11	1a
				12	1b
				13	1c
		20	N2	20	2
				21	2a
				22	2b
		30	N3		
		40	indeterminado		
	M	0	M0		
		1	M1	Localização Lesões Secundárias	10 Óssea
					11 Hepática
					12 Mamária Contra Lateral
					13 Cerebral
					14 Linfática
					15 Pulmonar
					16 Multi-orgânica
					17 Musculatura adjacente
		2	indeterminado		

Localização Tumor Primitivo	Mama dta.	10	cicatriz mastectomia
		11	toda a mama
		12	indeterminado
		13	QSMD
		14	QIMD
		15	QIEMD
		16	QSEMD
		17	QSIMD
		18	retromamilar MD
		19	UQEMD
		20	UQIMD
		21	UQSMD
	Mama esq.	30	cicatriz mastectomia
		31	toda a mama
		32	indeterminado
		33	QSME
		34	QIME
		35	QIEME
		36	QSEME
		37	QSIME
		38	retromamilar ME
		39	UQEME
		40	UQIME
		41	UQSME