ANA TERESA SCHMID-BRAZ

Estudo Citogenético de Tumores Ovarianos e Carcinomas Mamários

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Genética, Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

CURITIBA
2000

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DEPARTAMENTO DE GENÉTICA

Estudo Citogenético de Tumores Ovarianos e Carcinomas Mamários

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Genética, Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Genética

Aluna: Ana Teresa Schmid-Braz

Orientador: Prof. Dr. Iglenir João Cavalli

CURITIBA
2000

Ministério da Educação e Desporto
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
Curso de Pós-Graduação em Genética

P A R E C E R

Os abaixo-assinados, membros da Banca Examinadora da defesa de dissertação de Mestrado, a que se submeteu **ANA TERESA LEONI SCHMID-BRAZ**, para fins de adquirir o título de Mestre em Ciências Biológicas na área de Genética da Universidade Federal do Paraná, no Curso de Pós-Graduação em Genética, são de parecer que se confira à candidata o conceito **" A "**.

Secretaria da Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Genética do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Curitiba, 27 de junho de 2000.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Iglenir João Cavalli
Orientador e Presidente

Profª. Drª. Hiroko Nitta
Membro

Profª. Drª. Nina Amália Brancia Pagnan
Membro

Visto:

Profa. Dra. Marta Margarete Cestari
Vice-Coordenadora do Curso de Pós-Graduação
em Genética

Ao meu marido Diogo e

à minha filha Luiza.

AGRADECIMENTOS

Ao Professsor Iglenir João Cavalli, por todos esses anos de orientação na tese e na vida científica.

À Enilze Maria S. F. Ribeiro, por ter me ajudado na correção dos cariótipos e também pela valiosa contribuição na versão final deste trabalho.

À Luciane Regina Cavalli, com quem aprendi a técnica de cultivo dos tumores sólidos.

À grande amiga Déborah Afonso Cornélio, com quem divido experiências científicas há dez anos e que tem sido uma companheira exemplar de trabalho, de amizade e de força.

À equipe de médicos e auxiliares do Serviço de Oncologia do Hospital Nossa Senhora das Graças e da Oncoclínica.

À colega e amiga Lismeri Wuicik, pela ajuda na parte prática, processando e alimentando os tumores.

À Orésia Guérios, pela prontidão e boa vontade na correção gramatical deste trabalho.

À estagiária Grazielle e à funcionária Guaracira por terem colaborado na montagem de alguns cariótipos.

À minha irmã Maria Inês Schmid Guérios, por ter conferido as referências bibliográficas.

À Néria Maia Hemke, pelos momentos de paciência, em que me ensinou a trabalhar em um laboratório.

À minha mãe, por ter colaborado para que eu tivesse tempo para me dedicar à redação desta tese.

Às minhas colegas de Hospital de Clínicas, Tamara, Duca, Carmen Lúcia e Alexandra, por tornarem os momentos de “stress profissional” mais leves.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro durante os primeiros dois anos e meio do curso de pós-graduação.

E a todos que, embora eu não tenha citado o nome, colaboraram de alguma forma para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO

I. INTRODUÇÃO
1. HISTÓRICO..... 1
2. ASPECTOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS DOS TUMORES OVARIANOS..... 2
2.1 Tumores originados do epitélio de revestimento da superfície do ovário e do estroma..... 4
2.2 Tumores de células germinativas..... 7
2.3 Tumores de cordões sexuais-estroma..... 10
2.4 Tumores de natureza conjuntiva..... 11
2.5 Tumores metastáticos..... 12
3. ASPECTOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS DOS TUMORES MAMÁRIOS..... 12
3.1 Carcinomas não-invasivos (*in situ*)..... 12
3.2 Carcinomas invasivos..... 13
4. A BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE OVÁRIO..... 15
4.1 Características do epitélio de superfície ovariano normal e maligno..... 16
4.2 Ovulação repetitiva e etiologia do câncer de ovário..... 18
5. ALTERAÇÕES GENÉTICAS EM CÂNCER DE OVÁRIO..... 19
5.1 Citogenética dos tumores ovarianos..... 20
6. ALTERAÇÕES GENÉTICAS EM CÂNCER DE MAMA..... 37
6.1 Citogenética dos carcinomas mamários..... 41

II.OBJETIVOS..... 53

III. MATERIAL E MÉTODOS..... 54
1. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA..... 54
2. COLETA DO MATERIAL..... 55
3. DISSOCIAÇÃO E PREPARO DO MATERIAL PARA CULTURA..... 56
4. MÉTODO DE CULTURA E COLHEITA..... 57
5. MÉTODO DE ANÁLISE CROMOSSÔMICA..... 59
6. BANDEAMENTO CROMOSSÔMICO GTG..... 59
7. FOTOGRAFIA..... 60
8. MEIO DE CULTURA E SOLUÇÕES UTILIZADAS..... 60
9. ANÁLISE ESTATÍSTICA..... 62

IV.RESULTADOS..... 63
1. TUMORES OVARIANOS..... 63
CASO 1 – ADENOCARCINOMA PAPILÍFERO..... 64
CASO 2 – TERATOMA MADURO..... 71
CASO 3 – CISTOADENOCARCINOMA SEROSO..... 79
CASO 4 – ADENOCARCINOMA SEROSO..... 85
CASO 5 – CISTOADENOCARCINOMA SEROSO..... 94
2. CARCINOMAS MAMÁRIOS..... 100
CASO 1 – CARCINOMA *DUCTAL INVASOR*..... 101

CASO 2 – CARCINOMA LOBULAR INVASOR..... 108
CASO 3 – CARCINOMA DUCTAL..... 115
CASO 4 – CARCINOMA DUCTAL INVASOR..... 121
CASO 5 – CARCINOMA DUCTAL INVASOR..... 128

V.DISCUSSÃO..... 136
1. GRAUS DE PLOIDIA NOS CARCINOMAS OVARIANOS E MAMÁRIOS.. 136
2. ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS NUMÉRICAS E ESTRUTURAIS OBSERVADAS NOS TUMORES OVARIANOS..... 141
2.1 Carcinomas ovarianos..... 141
2.2 Teratoma maduro..... 149
3. ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS NUMÉRICAS E ESTRUTURAIS OBSERVADAS NOS CARCINOMAS MAMÁRIOS..... 153

VI.CONCLUSÕES..... 174

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....176

RESUMO

Foram analisados citogeneticamente quatro carcinomas ovarianos, um teratoma maduro de ovário e cinco carcinomas mamários. As amostras dos tecidos tumorais foram coletadas no Hospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba, Paraná, e foram processadas no Laboratório de Citogenética Humana do Departamento de Genética da Universidade Federal do Paraná, utilizando-se a técnica de desagregação enzimática pela colagenase, seguida de cultura celular a curto/médio prazo. As metáfases foram analisadas com coloração convencional para obtenção do número modal e com bandeamento GTG para a análise das aberrações cromossômicas. Nos quatro carcinomas ovarianos analisados, foram contados os cromossomos de 177 metáfases em coloração convencional. Três apresentaram número cromossômico modal igual ao hipodiplóide (35-45 cromossomos) e um apresentou número modal igual a 46 cromossomos. Setenta células foram analisadas pelo emprego do bandeamento GTG, das quais dez (14,29%) apresentaram um cariótipo normal e 60 (85,71%) mostraram alterações cromossômicas, sendo que destas, 45 (75%) revelaram alterações cromossômicas clonais. No total, foram observadas 225 aberrações, sendo que 115 (51,11%) delas formaram os 36 clones detectados. As alterações numéricas (102 = 88,69%) foram mais freqüentes que as estruturais (13 = 11,30%) (χ^2_1=68,88; P<0,001), e entre as numéricas, as monossomias (77= 75,49%) foram mais freqüentes que as trissomias (25 = 24,51%) (χ^2_1=26,50; P<0,001). Os cromossomos mais freqüentemente envolvidos nas aberrações cromossômicas clonais foram 18, 17, 16, 20 e 22. O teratoma maduro, após a contagem de 72 células com coloração convencional, apresentou número modal igual a 46 cromossomos. Dezenove células foram analisadas com bandeamento GTG, sendo que três (15,79%) eram normais; quatro (21,05%) eram pseudodiplóides e 12 (63,16%) apresentaram número cromossômico próximo ao diplóide. As aberrações clonais envolveram principalmente os cromossomos 21, 14, X e 16. Nos cinco carcinomas mamários analisados, foram contados os cromossomos de 473 metáfases em coloração convencional. Em três dos cinco carcinomas analisados, o número cromossômico modal foi igual a 46, em um foi igual ao hipodiplóide e em outro foi próximo ao tetraplóide (>80 cromossomos). Nos cinco carcinomas, 209 células foram analisadas pelo emprego do bandeamento GTG, das quais 82 (39,23%) apresentaram um cariótipo normal e 127 (60,76%) apresentaram alterações cromossômicas, sendo que destas 111 (87,40%) apresentaram alterações cromossômicas clonais. As alterações numéricas foram mais freqüentes que as estruturais (136 e 71, respectivamente) (χ^2_1=20,42; P<0,001) , e entre as numéricas, as monossomias foram mais freqüentes que as trissomias (108 e 28, respectivamente) (χ^2_1=47,06; P<0,001). No total, foram observadas 340 aberrações, sendo que 207 (60,88%) delas formaram os 45 clones detectados, envolvendo preferencialmente os cromossomos 14, 9, 6, 16, 18 e 21. Tanto para as alterações numéricas como para as estruturais identificadas neste trabalho, encontramos achados semelhantes na literatura, inclusive de mesmos pontos de quebra, reforçando a sugestão do envolvimento preferencial de determinados cromossomos nos processos de proliferação celular e transformação maligna em mama e ovário.

I. INTRODUÇÃO

1. HISTÓRICO

A importância dos cromossomos na hereditariedade foi estabelecida de forma definitiva pela Teoria Cromossômica da Herança (Sutton e Boveri, 1902 citado por MITELMAN *et al.*, 1997). Desde então, os mesmos vêm sendo intensamente estudados fisiológica e estruturalmente, tanto pelo emprego de metodologias citológicas como moleculares. No homem, estes estudos têm sido feitos em indivíduos normais, portadores de diversas síndromes e, principalmente nas últimas duas décadas, em pacientes com neoplasias hematopoéticas e de tecidos sólidos.

Tendo como base observações obtidas anteriormente, principalmente as descritas por David von Hansemann (1890) que associou as freqüentes ocorrências de irregularidades mitóticas nos tecidos malignos ao desenvolvimento de tumores (citado por MITELMAN *et al.*, 1997), Theodor Boveri formulou, em 1914, a Teoria Mutacional do Câncer, segundo a qual as aberrações cromossômicas promoveriam o crescimento celular anormal (citado por MITELMAN *et al.*, 1997).

No entanto, nas quatro décadas subseqüentes, o estudo dos cromossomos humanos permaneceu muito limitado, principalmente devido às dificuldades técnicas. Somente em 1956 foi estabelecido de forma definitiva o número exato de cromossomos das células diplóides humanas normais (Tjio e Levan citado por HEIM e MITELMAN, 1995), e em 1960 NOWELL e HUNGERFORD

relacionaram, pela primeira vez, uma alteração cromossômica específica a uma neoplasia específica, ao descreverem o cromossomo *Philadelphia* em pacientes com leucemia mielóide crônica.

No entanto, o grande avanço da citogenética dos eucariontes, incluíndo a humana, somente foi possível com o desenvolvimento das técnicas de bandeamento (CASPERSSON *et al.,* 1968) e com a sua aplicação aos cromossomos humanos (ZECH, 1969; CASPERSSON *et al.*, 1970 a,b,c,d,e). A partir de então, foi possível identificar uma série de aberrações cromossômicas envolvidas em neoplasias. Isso se tornou importante sob os aspectos de diagnóstico e prognóstico, principalmente nas doenças hematopoéticas e permitiu as mesmas análises nos tumores sólidos, objetivando o mesmo avanço metodológico.

2. ASPECTOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS DOS TUMORES OVARIANOS

Apesar do prognóstico desfavorável, a incidência geral do câncer de ovário é comparativamente baixa. Estimativas americanas indicam uma incidência de 4% entre os novos casos de cânceres nas mulheres. A classificação destes tumores é tão difícil que freqüentemente os esquemas são reconsiderados e novos são propostos. Existem vários critérios para a classificação patológica dos tumores ovarianos, baseados nas unidades anatômicas e estruturais do órgão, bem como no local de origem do tumor. Para finalidades didáticas, parece aconselhável a classificação elaborada por Scully (1970) e adaptada por Robbins (1982), que segue o critério histogenético indicando

imediatamente a origem e a natureza de cada tumor ovariano (BOGLIOLO *et al.,* 1987):

I. Tumores Originados do Epitélio de Revestimento da Superfície do Ovário e do Estroma:

- seroso
- mucinoso
- endometrióide
- de células claras (mesonéfrico)
- de Brenner
- cistadenofibroma

II. Tumores Originados de Células Germinativas:

- disgerminoma
- teratoma cístico (cisto dermóide)
- teratoma sólido (bem diferenciado e embrionário)
- tumor de seio endodérmico (carcinoma de saco vitelínico)
- carcinoma de células embrionárias
- coriocarcinoma

III. Tumores Originados de Cordões Sexuais

- *tumores de células da granulosa*

- tecoma
- luteoma
- tumores de células de Sertoli-Leydig

IV. Tumores de Natureza Conjuntiva

- fibroma
- fibrosarcoma

V. Tumores Metastáticos

2.1 Tumores Originados do Epitélio de Revestimento da Superfície do Ovário e do Estroma

A maior parte (87%) dos tumores primários do ovário deriva de seu epitélio de revestimento; podem ser serossecretantes, mucossecretantes ou endometrióides, reproduzindo, desse modo, as características do epitélio da trompa, da endocérvix e do endométrio. Entre os tumores constituídos por epitélio altamente diferenciado desses três tipos e os francamente malignos, formados por epitélio atípico e invasivo, existe toda uma gama de formas, algumas das quais morfologicamente limite (*borderline*), em que o diagnóstico histológico de malignidade é difícil ou impossível.

2.1.1 Aspectos Gerais

Tumores Benignos – Os cistoadenomas ocorrem geralmente em mulheres com menos de 40 anos de idade. Eles podem ser de qualquer tamanho e 1/3 é bilateral. Os tumores serosos tendem a ser uniloculares e os tumores mucinosos multiloculares. Ao exame microscópico, os cistoadenomas são revestidos por uma única camada de epitélio.

Tumores de Baixo Potencial Maligno – Os tumores de baixo potencial maligno – os chamados carcinomas limítrofes – ocorrem geralmente em mulheres entre os 20 e 45 anos de idade. Eles são de dimensões variáveis, podendo alcançar proporções gigantescas. Cerca de 1/3 é bilateral. Esses tumores apresentam, microscopicamente, frondes papilíferas nas quais um espesso eixo fibrovascular é coberto por um manto de células neoplásicas atípicas, estratificadas.

Tumores Malignos (Carcinomas Invasivos) – Os tumores francamente malignos são raros em mulheres com menos de 40 anos. Eles podem ser de qualquer tamanho, embora na ocasião em que um tumor alcance 10 a 15 cm de diâmetro já tenha freqüentemente disseminado além do ovário e semeado o peritônio. Os adenocarcinomas serosos são comumente bilaterais. Ao exame macroscópico, as lesões malignas apresentam-se freqüentemente como uma massa sólida. Microscopicamente, eles se caracterizam pela invasão do estroma.

2.1.2 Aspectos Específicos dos Tumores Epiteliais Comuns

Todos os tumores epiteliais podem apresentar-se sob três formas: benigna, limite (*borderline*) e maligna.

Tumores Serosos – O cistadenoma seroso é o tumor epitelial mais comum. Os tumores serosos de baixo potencial maligno respondem por 15% de todas as neoplasias malignas ovarianas. O adenocarcinoma seroso é o tumor ovariano maligno mais comum, respondendo por 25% do total.

Tumores Mucinosos – Os tumores mucinosos podem crescer até dimensões extremamente grandes, alguns até acima de 8,5 Kg. Quer eles sejam benignos, de baixo potencial maligno, ou francamente malignos, os tumores são em geral multiloculares. Podem ser bilaterais, mas isso ocorre com menor freqüência do que no caso de tumores serosos.

Adenocarcinomas Endometrióides – Os adenocarcinomas endometrióides são com freqüência erroneamente classificados como tumores serosos, o que é responsável pela baixa freqüência de descrições dos mesmos. Ao contrário das neoplasias serosas e mucinosas, quase todos os tumores endometrióides são malignos. Mais de ¾ dos casos de tumores sincrônicos do ovário e endométrio, em que cada um aparece localizado, são de padrão endometrióide.

Adenocarcinoma de Células Claras – O adenocarcinoma de células claras é um padrão pouco comum de tumor epitelial e é caracterizado por células epiteliais grandes com citoplasma claro abundante. Considerado como intimamente relacionado com o adenocarcinoma endometrióide, é encontrado freqüentemente em associação com a endometriose.

Tumor de Brenner - O tumor de Brenner, ao contrário de outros tumores epiteliais comuns, tem dois componentes. O próprio tumor, quando benigno, é composto de ninhos sólidos de células semelhantes ao urotélio, encaixados em um estroma denso e fibroso. As células epiteliais mais superficiais podem apresentar uma diferenciação mucinosa. Um pequeno número de casos é de baixo potencial maligno ou francamente maligno.

Cistadenofibroma – O epitélio superficial do ovário invade a camada cortical, formando túbulos que se dilatam cisticamente. O tumor aparece como nódulos na superfície do ovário, com pequenas cavidades contidas na camada cortical fibrosa e revestidas por epitélio seroso.

2.2 Tumores de Células Germinativas

Os tumores de células germinativas constituem 20% de todos os tumores ovarianos. A maioria é benigna e responde por apenas 3% de todas as neoplasias malignas do ovário. Entretanto, eles são os cânceres ovarianos mais comuns em crianças. Os tumores de células germinativas são raros depois da menopausa. A célula germinativa neoplásica pode seguir uma de

diversas linhagens de diferenciação. O tumor pode proliferar como células germinativas neoplásicas indiferenciadas, isto é, um germinoma. Quando o tumor apresenta tecidos embrionários, ele é denominado teratoma. As estruturas extra-embrionárias fornecem o nome de tumor do seio endodérmico (carcinoma do saco vitelínico) ou coriocarcinoma. De um modo geral, os tumores de células germinativas malignos são altamente agressivos.

Disgerminoma – Representa 1% de todos os tumores ovarianos e 10% de tumores em mulheres com menos de 20 anos de idade. A maioria das pacientes tem entre 10 e 30 anos de idade. Alguns tumores são bilaterais. Freqüentemente eles são grandes e firmes, microscopicamente revelando grandes ninhos de células germinativas com citoplasma claro cheio de glicogênio e núcleos centrais irregularmente achatados.

Teratomas

Teratoma Maduro (Teratoma Cístico Maduro, Cisto Dermóide) – É o tumor de células germinativas mais comum, representando aproximadamente 25% de todos os tumores ovarianos. A freqüência máxima ocorre em mulheres entre 20 e 30 anos de idade. Esse tumor se desenvolve por partenogênese, isto é, células tumorais diplóides se desenvolvem de uma célula germinativa haplóide. O tumor é cístico e contém pêlos e sebo. Existe com freqüência um pequeno nódulo ao longo de uma margem da parede cística que contém elementos teciduais de todas as três camadas de células germinativas:

ectoderme (pele e glia), mesoderme (cartilagem) e endoderme (intestino). Os cistos dermóides raramente sofrem uma transformação maligna.

Teratoma Imaturo – O teratoma imaturo é um câncer ovariano composto de tecidos embrionários que quase sempre estão sob a forma de um teratoma sólido. Embora incomum, ele representa 20% dos tumores malignos em mulheres abaixo de 20 anos de idade. O comprometimento bilateral é raro. O tumor, em geral, é predominantemente sólido e lobulado, contendo numerosos cistos pequenos. As áreas sólidas podem conter osso e cartilagem reconhecíveis.

Tumor do Seio Endodérmico (Carcinoma do Saco Vitelino) – O tumor de seio endodérmico é um tumor altamente maligno e raro, encontrado em geral em mulheres entre 10 e 30 anos de idade. O tumor apresenta macroscopicamente extensa necrose e hemorragia. O exame microscópico revela padrões múltiplos que recapitulam o mesênquima do saco vitelino primitivo. Um padrão característico das papilas que se projetam em uma rede de estruturas anastomosantes se assemelha aos seios endodérmicos da placenta dos roedores.

Carcinoma de Células Embrionárias – É um tumor raro, altamente maligno, observado em geral em mulheres abaixo dos 30 anos de idade; ¼ das afetadas é pré-púbere. Os tumores são unilaterais sólidos e apresentam hemorragia e necrose extensas. Microscopicamente, as células primitivas

estão misturadas com células gigantes sinciciotrofoblásticas que se assemelham às da placenta.

Coriocarcinoma – É um tumor raro, tem duas origens possíveis. É admitida uma derivação de células germinativas quando ele surge antes da puberdade ou em associação com outra forma de tumor de células germinativas. Nas mulheres em idade de reprodução, ele pode ser de origem gestacional, seja como uma metástase ou de uma gravidez ovariana. O tumor é unilateral, sólido e altamente hemorrágico. Microscopicamente ele é composto de uma mistura de células citotrofoblásticas e sinciciotrofoblásticas malignas.

2.3 Tumores de Cordões Sexuais-Estroma

Os tumores de cordões sexuais-estroma variam desde o benigno até o maligno e se diferenciam para estruturas femininas ou masculinas. Os tumores derivados do mesênquima ovariano sintetizam estrógenos e são por isso feminilizantes. As neoplasias formadas à custa das células dos cordões sexuais produzem hormônios andrógenos e são masculinizantes, e podem evoluir para a linhagem masculina, originando as células de Sertoli e as de Leydig. Os tumores deste último grupo são mais freqüentemente malignos do que os feminilizantes.

2.3.1 Tumores Feminilizantes

Tumores de Células da Granulosa – Estes tumores podem ocorrer em qualquer idade, mas são raros antes da puberdade. Eles apresentam uma série de

padrões, sendo os mais característicos os macro e microfoliculares. Aproximadamente ¼ dos tumores é funcionante, secretando estrogênios. Cerca de 20% das mulheres afetadas têm uma hiperplasia ou câncer do endométrio associados.

Tecomas-Luteomas – Os tecomas são tumores com freqüência estrogênicos e levam à proliferação do endométrio, tornando-o hiperplásico. Alguns tumores compostos em grande parte de células da teca também têm focos de células da granulosa, caso em que a neoplasia é chamada tumor da teca granulosa. Todas as variantes destes tumores podem sofrer luteinização, que quando intensa, é definida como luteoma.

2.3.2 Tumores Masculinizantes

Tumores de Células de Sertoli-Leydig – O tumor de células de Sertoli-Leydig (anteriormente denominados arrenoblastoma ou androblastoma) é um tumor de baixo potencial maligno com estruturas assemelhando-se à dos testículos. Em geral, o tumor ocorre em mulheres jovens, entre 15 e 40 anos de idade, está freqüentemente associado com virilização, é quase sempre unilateral e, em geral, não recidiva após a remoção. A virilização acentuada é produzida pela secreção de testosterona ou outros hormônios androgênicos pela neoplasia.

2.4 Tumores de natureza conjuntiva

Fibroma – Este tumor é freqüente em mulheres entre 33 e 64 anos de idade; geralmente unilateral e de tamanho variável, podendo atingir volume

considerável. É de consistência dura, bem circunscrito, com parênquima firme, esbranquiçado e fasciculado.

Fibrosarcoma – É um tumor muito raro, altamente maligno e apresenta evidente atividade mitótica.

2.5 Tumores Metastáticos

Aproximadamente 8% dos tumores ovarianos origina-se fora do ovário, sendo os locais primários mais comuns a mama, intestinos e outros órgãos das vias genitais. As metástases de câncer de colo geralmente simulam uma massa ovariana primitiva. As células neoplásicas crescem em padrões iguais aos do câncer intestinal primário, formando glândulas grandes ou pequenas.

3. ASPECTOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS DOS TUMORES MAMÁRIOS

Diversas classificações têm sido propostas para as neoplasias da mama. Na seguinte classificação, adotada pela Organização Mundial de Saúde, segundo ROBBINS e COTRAN (1991) e ARCURI *et al.* (1997), será apresentada uma revisão geral das variedades e tipos tumorais.

3.1. Carcinomas não-invasivos (*in situ*)

- *Carcinoma intraductal*: mais de 90% dos carcinomas mamários originam-se dentro dos ductos. Quando permanecem confinados pela membrana basal

ductal constituem um carcinoma não infiltrante. Macroscopicamente, o tumor é, em geral, um foco mal definido de consistência levemente aumentada causada por marcante dilatação e solidificação dos ductos. Histologicamente, os ductos estão dilatados e cheios de células epiteliais neoplásicas que obstruem a luz. Raramente, esses carcinomas intraductais possuem um padrão papilar. Nestas circunstâncias são chamados carcinomas papilares intraductais.

- *Carcinoma lobular in situ*: é uma lesão histologicamente única, manifestada por proliferação, em um ou mais ductos terminais, de células frouxamente ligadas, sem evidência microscópica de invasão através da membrana basal do estroma vizinho.

3.2. Carcinomas invasivos

- *Carcinoma ductal infiltrante (invasivo)*: histologicamente, as células estão disseminadas num estroma fibroso, e freqüentemente evidencia-se a invasão dos espaços perivasculares e perineurais bem como dos vasos sanguíneos e linfáticos.

- *Carcinoma medular*: é uma lesão pouco freqüente, bem circunscrita, com margens bem definidas, que não possui a marcada desmoplasia (formação de tecido fibroso) do carcinoma comum, sendo distintivamente menos consistente à palpação externa e à superfície do corte. Este carcinoma tem um melhor prognóstico em relação aos infiltrantes ductais, sendo que a maioria das pacientes permanece livre da doença após mastectomia.

- *Carcinoma mucinoso (colóide):* é uma neoplasia com prognóstico favorável, constituída por grande quantidade de muco epitelial extracelular, produzindo grandes massas gelatinosas. A taxa de sobrevida é maior no carcinoma predominantemente mucoso, sendo infreqüentes as metástases para os linfonodos.

- *Carcinoma lobular*: embora perfaçam somente 5 a 10% dos carcinomas de mama, os carcinomas lobulares invasivos são de particular interesse por tenderem a ser bilaterais muito mais freqüentemente do que aqueles originários dos ductos e multicêntricos dentro da mesma mama. Macroscopicamente, o tumor tem consistência de borracha e é mal delineado. Histologicamente, consiste de cordões de células tumorais infiltrantes, freqüentemente de apenas uma célula de largura, frouxamente dispersas pela matriz fibrosa.

- *Doença de Paget:* é uma forma especializada de carcinoma ductal que se origina nos ductos excretórios principais da mama e se estende, comprometendo a pele do mamilo e aréola. Como conseqüência dessa invasão maligna da pele, ocorrem alterações eczematóides no mamilo e aréola. As características macroscópicas consistem no comprometimento da pele, que se encontra fissurada, ulcerada e drenando secreção. E no nível histológico, ocorre o comprometimento da epiderme por células malignas.

- *Carcinoma tubular:* é uma forma de neoplasia bem diferenciada, caracterizada pela presença de ductos bem definidos, com uma camada de

células regulares de espessura, envolvidos em denso estroma fibroso. Em geral, quando puras, estas lesões exibem um bom prognóstico.

4. A BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE OVÁRIO

Na teoria, todos os tipos celulares que compõem o ovário humano têm o potencial para transformação maligna. A vasta maioria dos tumores malignos de ovário, entretanto, surgem do epitélio de superfície ovariano. Estas células têm importantes funções durante a vida reprodutiva; elas contribuem para a ruptura folicular e para a divisão celular e reparam o corte que acompanha a ovulação. Há muita especulação de que os rápidos ciclos de divisão celular associados com o reparo do corte contribuem significativamente para o desenvolvimento do câncer ovariano. Tal especulação é baseada na observação de que cânceres ovarianos ocorrem mais freqüentemente no final da vida reprodutiva da mulher e estão associados com nuliparidade. É de grande significado que, ao contrário da maioria dos epitélios, estas células não são substituídas por reposição de células-tronco com o desenvolvimento de uma célula normal e uma célula com potencial de crescimento contínuo. Ao invés disso, a divisão de uma célula do epitélio de superfície ovariano leva a duas células-filhas com igual potencial para crescimento subseqüente. Desta forma, todas as mutações potenciais, à medida que se acumulam, são passadas quase que exponencialmente a gerações de células subseqüentes em expansão, que podem adquirir mutações adicionais que podem conferir fenótipo maligno (GODWIN *et al.,*1993).

A etiologia do câncer ovariano é desconhecida, mas há alguns dados que sugerem que fatores múltiplos podem contribuir para a iniciação e progressão da doença. A grande maioria dos carcinomas ovarianos surge como resultado de transformação maligna do epitélio de superfície ovariano. Este simples epitélio, composto por uma camada simples de células, freqüentemente é descrito como mesotélio peritoneal modificado (GODWIN *et al.,*1993).

4.1 Características do Epitélio de Superfície Ovariano Normal e Maligno

Na vida adulta, as células do epitélio de superfície ovariano formam uma camada simples de células que variam de escamosas a cuboidais e colunares baixas. As características não definidas destas células sugerem que elas podem ter um papel pequeno na função ovariana normal, embora este não pareça ser o caso. O ovário tem duas funções principais: (1) a produção de hormônios esteróides, e (2) a liberação periódica dos óvulos. Com base em dados de diversas espécies, células do epitélio de superfície do ovário são tidas como tendo um papel importante no processo maligno (GODWIN *et al.,*1993). Quando a ovulação se aproxima, as células na área da fossa de ovulação produzem corpos lisossômicos grandes, que migram para a região basal das células. Estes corpos grandes são excretados das células da superfície basal antes da ovulação. Acredita-se que os corpos lisossômicos contenham enzimas que participam no rompimento da túnica albugínea e assim auxiliam na ruptura folicular. O processo de ovulação resulta em um corte da superfície do ovário que é reparada pelo crescimento rápido das células epiteliais. Estas células epiteliais devem também participar na produção de uma nova túnica albugínea. A necessidade de regulação

para ambos os processos (produção do lisossomo e reparo do corte) sugere que as funções das células epiteliais são controladas por mecanismos complexos (GODWIN *et al.,*1993).

O potencial para hormônios e fatores de crescimento regularem o crescimento e função destas células é sugerido pela presença de receptores apropriados para muitas destas substâncias reguladoras tanto em células normais como em malignas. A presença de receptores de estrógeno nas células malignas geralmente é considerada como resultado da retenção de uma característica diferenciada da célula progenitora normal, ao invés de uma nova síntese como resultado de uma transformação maligna. A função exata do estrógeno na regulação das células epiteliais não é conhecida. Evidências limitadas em ratos e camundongos sugerem que o estrógeno é um mitógeno fraco. Em algumas linhagens celulares de câncer de ovário positivas para receptor de estrógeno, foi demonstrado que o estrógeno é um forte mitógeno e promove a capacidade de crescimento independente de substrato (GODWIN *et al.,*1993).

Os papéis dos hormônios peptídeos e fatores de crescimento na regulação do epitélio do ovário não estão completamente definidos. Foi demonstrado que a incidência do câncer de ovário, dependente da idade, aumenta abruptamente com a menopausa. A mudança relacionada com a idade nas funções ovarianas resulta na perda da inibição do *feedback* na síntese de hormônio peptídico pituitário, de maneira que a pituitária produz quantidades aumentadas do Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e Hormônio Luteinizante (LH), por alguns anos após o climatério. Isto sugere que o LH e o FSH podem, de alguma forma, contribuir para o desenvolvimento do câncer de ovário. O potencial para efeitos diretos dos

hormônios peptídicos no epitélio de superfície é mostrado pela existência de receptores FSH e LH nos espécimes de câncer de ovário (GODWIN *et al.,*1993).

A explicação de como hormônios e fatores de crescimento podem influenciar diretamente na etiologia do câncer ovariano é mais complexa. A mais simples explicação é de que qualquer aumento na replicação do DNA aumenta a probabilidade de mutação. Tais mutações podem ser dominantes, ativando um proto-oncogene ou produzindo um produto anti-oncogênico alterado. Mutações recessivas também podem inativar genes supressores (GODWIN *et al.,*1993).

4.2 Ovulação Repetitiva e Etiologia do Câncer de Ovário

A observação de que o câncer de ovário é mais prevalente em mulheres nulíparas serve como base para o desenvolvimento de uma hipótese de que atividade ovulatória repetitiva é um fator na transformação maligna do epitélio do ovário (GODWIN *et al.,*1993).

É tentador especular como a atividade ovulatória poderia contribuir na etiologia do câncer de ovário. Se os cistos de inclusão epitelial são importantes na etiologia da doença, é óbvio que existiria uma chance muito maior para tais cistos em "formar câncer" nas pessoas que ovulam com mais freqüência. Além disso, a atividade mitótica requerida das células epiteliais para reparar o corte criado pela ruptura folicular acompanhando a ovulação, pode ser um fator no início da doença. As mutações são mais prováveis de ocorrer em células em divisão do que nas quiescentes. Além disso, o crescimento aumenta a quantidade de células portadoras de uma mutação potencial inicial, aumentando a probabilidade de uma

mutação adicional ocorrer nestas células com uma mutação pré-existente (GODWIN *et al.,*1993).

5. ALTERAÇÕES GENÉTICAS EM CÂNCER DE OVÁRIO

É sabido que o câncer é uma doença que ocorre devido a anormalidades herdadas ou adquiridas em genes que codificam moléculas envolvidas na transmissão de sinais reguladores de crescimento. Duas principais classes de genes, os oncogenes e os genes supressores tumorais, estão envolvidas na oncogênese. Os oncogenes codificam diversas proteínas que estão, em vias de sinalização, envolvendo peptídeos estimuladores de crescimento, fatores de crescimento e seus receptores. Devido ao fato de que alterações em um único alelo de um oncogene podem transformar células quando tais genes são ativados por mutações de ponto, amplificações ou translocações, os oncogenes são considerados genes de transformação dominantes. Os genes supressores codificam proteínas que normalmente estão envolvidas em vias que inibem a proliferação. Devido ao fato dos produtos destes genes inibirem, ao invés de estimularem a proliferação, a inativação de ambas as cópias de um gene supressor é necessária para produzir transformação maligna (BERCHUCK *et al.,*1992).

O estudo dos oncogenes e genes supressores de tumor tem mostrado que a transformação de células humanas normalmente requer uma ação conjunta de diversos genes causadores de câncer. Além disso, oncogenes específicos parecem ser ativados preferencialmente nos vários tipos de câncer. Embora ainda

não esteja claro se a grande maioria dos oncogenes desempenha um papel na regulação do crescimento e transformação nos cânceres ovarianos, vários estudos demonstraram a ação de alguns deles (DI FIORE *et al.,*1987; SLAMON *et al.,*1987; MULLER *et al.,*1988; KOHLER *et al.,*1989; BERCHUCK *et al.,*1990, 1991, 1992). Entre os cânceres de ovário em estágio avançado, foi encontrado o oncogene *ERBB* (17p12) expresso em 77% dos casos, com a sobrevida significativamente menor dos pacientes. Outro oncogene, o *ERBB2* (17q11.2-12) também foi demonstrado estar amplificado em alguns cânceres de ovário, além dos cânceres de mama, estando relacionado a uma baixa sobrevida. O oncogene *CSF1R* (5q33.2) está expresso em muitos cânceres de ovário, mas não no epitélio normal, tendo sido associada a sua presença a invasividade aumentada nestes tumores. Além desses, a família dos oncogenes *ras* tem sido citada. Foi demonstrado que o oncogene *KRAS2* (12p12) está amplificado em 5-10% dos cânceres epiteliais ovarianos. Amplificação do oncogene *MYC* (8q24) também foi descrita em câncer epitelial de ovário.

5.1 Citogenética dos tumores ovarianos

Nos últimos trinta anos, muitas alterações numéricas e estruturais recorrentes, têm sido descritas entre as malignidades hematológicas, tornando possível, principalmente correlacionar os achados cariotípicos com sinais clínicos, além de direcionar estudos moleculares para o esclarecimento dos mecanismos celulares envolvidos no desenvolvimento das neoplasias hematológicas. Muito menos informações genéticas têm sido acumuladas para tumores sólidos,

principalmente nos carcinomas. Esta falta de dados é em parte devido às dificuldades técnicas no cultivo de células neoplásicas, e também devido à complexidade cariotípica característica destes tumores, dificultando, ou em alguns casos, impossibilitando a identificação dos rearranjos cromossômicos (MERTENS *et al.,* 1997).

Embora os cariótipos de mais de 300 amostras de carcinomas de ovário, incluíndo lesões metastáticas e efusões, tenham sido publicados, a informação citogenética detalhada nos carcinomas ovarianos é limitada (MITELMAN, 1994; TAETLE *et al.*, 1999). Isto deve ser devido ao baixo índice de crescimento destas células tumorais em cultura, e à dificuldade de obtenção de preparações metafásicas boas e analisáveis (ARNOLD *et al.,* 1996). Além disso, ao contrário dos cânceres hematológicos, muitos tumores sólidos apresentam um alto grau de complexidade cariotípica (TAETLE *et al.*, 1999).

Até algum tempo, pouco se sabia em relação à predisposição e fatores de risco, bem como sobre mecanismos genéticos e anormalidades cariotípicas importantes na patogênese deste neoplasma. A descrição de alterações cromossômicas primárias e secundárias em carcinoma de ovário tem sido dificultada pela complexidade das alterações clonais características destes tumores. Isto se deve, em parte, ao fato de que a maioria dos pacientes são diagnosticados com a doença em estágio avançado, onde os cariótipos já alcançaram tal complexidade (THOMPSON, 1997).

Diversas alterações cromossômicas têm sido relacionadas aos tumores ovarianos.

Anormalidades do cromossomo X, principalmente numéricas, são comumente descritas em estudos citogenéticos ovarianos (KUSYK *et al.,*1982; IHARA *et al.,*1983; TEYSSIER *et al.,*1985; TRENT,1985a; ROBERTS e TATTERSALL,1990; SPELEMAN *et al.,*1990; SURTI *et al.,*1990; PEJOVIC *et al.,*1992a; YANG-FENG *et al.,*1992, 1993; BERG-BAKKER *et al.,*1993; THOMPSON *et al.,*1994; DIEBOLD *et al.,*1996; CHOI *et al.*,1997; HANSON *et al.,*1997). Trissomias do cromossomo X também são freqüentemente descritas em tumores ovarianos. DIEBOLD *et al.*(1996), analisando alterações por citogenética interfásica, encontraram trissomia do X em 15% de 20 tumores de baixo potencial maligno (LMP), e no grupo dos carcinomas invasivos, a trissomia do X foi observada em 40% de dez tumores analisados. No estudo dos teratomas, a trissomia do X também está presente. Em um estudo de sete casos de teratoma imaturo a análise cromossômica revelou cariótipo normal em quatro casos, e nos outros três anormalidades cromossômicas foram vistas em todas as células analisadas; sendo que um caso apresentou cariótipo 47,XXX (IHARA *et al.,*1983). Outra análise de teratomas, revelou um caso com trissomia e outro com tetrassomia do X (teratomas benignos) dentre seis com alterações, e um teratoma imaturo com o cariótipo 78,XXXX (SURTI *et al.,*1990).

A monossomia do cromossomo X tem sido descrita em um grande número de carcinomas ovarianos (TRENT,1985a), tendo sido descrita em 15% de casos de adenocarcinoma estudados por THOMPSON *et al.* (1994). PEJOVIC *et al.* (1992a), em um estudo de aberrações cromossômicas em 35 carcinomas primários de ovário, observaram que 17 tumores apresentaram monossomia do cromossomo X. Caracterizando linhagens celulares, as quais foram estabelecidas

originalmente de fluido ascítico obtido de um paciente com um câncer de ovário agressivo, HANSON *et al.* (1997) encontraram 38 células da linhagem de cultura de longo termo com monossomia do cromossomo X, além de um clone com uma t(1;14). BERG-BAKKER *et al.* (1993) estudaram citogeneticamente sete linhagens celulares de câncer de ovário; seis delas apresentaram alterações no cromossomo X: monossomia em duas linhagens, deleção em Xq21 e Xq24 em outras duas e translocações balanceadas (X;16)(q26;q21) e (X;22)(p11;q11). Na análise de quatro tumores ginecológicos (três tumores ovarianos e um carcinoma de endométrio), foram encontrados três casos com monossomia do X (dois carcinomas ovarianos e um teratoma imaturo), além de outras alterações (KUSYK *et al.,*1982).

Em 123 tumores ovarianos estudados, sendo 112 carcinomas, CHOI *et al.* (1997) observaram perda de heterozigosidade (LOH) em pelo menos um loco no cromossomo X, em 37 carcinomas (33%). Entre estes, 32 (86,5%) mostraram LOH em vários locos em Xq25-26.1. A LOH em Xq foi associada com tumores de alto grau de malignidade e estágio avançado. Além disso, para o loco *TP53* (17p13.1), foram analisados 123 casos. Dos 65 casos informativos, 33 (50%) mostraram LOH em *TP53*, que também foi associada com tumores de alto grau e em estágios mais avançados. Os tumores com LOH no loco *TP53* apresentaram mais freqüentemente LOH em Xq do que os sem LOH em *TP53*, sugerindo que a perda da função deste gene ou perda de outros genes próximos a este pode ser um pré-requisito para perdas em Xq. Somando-se a esses resultados, outros estudos encontraram LOH específica em Xq próximo ao gene para receptor andrógeno (*AR*) no cromossomo X inativado em tumores de baixo potencial maligno (CHENG

et al., 1996 e CHENEVIX-TRENCH *et al.*, 1997). Estudos anteriores de tumores ovarianos mostraram uma freqüência de LOH significativa em Xp21 (60% de 15 pacientes estudados por YANG-FENG *et al.,*1992 e 41% de 50 pacientes estudados por YANG-FENG *et al.,* 1993).

Outro cromossomo bastante envolvido em alterações é o cromossomo 1. Rearranjos deste cromossomo são freqüentes na maioria dos tumores, independente do tecido de origem (MITELMAN, 1994). Alterações estruturais do cromossomo 1 podem ser encontradas em mais de 60% dos carcinomas ovarianos com anormalidades clonais (KUSYK *et al.,* 1982; JENKYN e McCARTNEY, 1987; ROBERTS e TATTERSALL, 1990; PEJOVIC *et al.,* 1992a, 1993, 1996a; BERG-BAKKER, 1993; THOMPSON *et al.,* 1994, 1997; BROCK *et al.,* 1996; DIEBOLD *et al.,* 1996; DEGER *et al.,* 1997; ECHTEN *et al.,* 1998). Em apenas um trabalho, deleções e translocações envolvendo as regiões q21 e q32 foram vistas em oito dos 17 carcinomas analisados; entre elas constataram-se perdas totais ou parciais do cromossomo 1 e t(1;6)(p10;p10) (DEGER *et al.,* 1997). Embora provavelmente estejam relacionadas à progressão tumoral, estas anormalidades podem ocorrer no início do processo tumoral, pois são encontradas em casos com cariótipos simples, próximos ao diplóide e em tumores ovarianos limite e de baixo grau de malignidade (THOMPSON *et al.,* 1994, 1997). Vários outros autores descreveram casos de carcinomas de ovário com envolvimento do cromossomo 1. Rearranjos estruturais do cromossomo 1 foram freqüentes em seis linhagens estudadas, dando origem a cromossomos marcadores e a ausência das cópias normais destes cromossomos. O ponto de quebra no cromossomo 1 foi freqüentemente proximal, resultando em deleção ou translocação de um dos

braços (BERG-BAKKER *et al.,* 1993). PEJOVIC *et al.* (1992a) descreveram uma translocação t(1;5), além de rearranjos do cromossomo 1 em 25 tumores de ovário, nos pontos de quebra 1q21-23 e 1p36. PEJOVIC *et al.* (1996a) analisaram citogeneticamente quatro tumores malignos de ovário. Rearranjos do cromossomo 1 foram observados em todos os tumores, com perda de material cromossômico distalmente em 1p. Em um tumor de célula de Sertoli em ovário (malignidade rara de baixo grau, que ocorre no testículo e ovário) um adicional i(1q) foi observado como única alteração (PEJOVIC *et al.,* 1993).

Aberrações citogenéticas envolvendo o cromossomo 3, principalmente em 3p, são freqüentemente descritas (TRENT e SALMON, 1981; WHANG-PENG *et al.,* 1984; PANANI e FERTI-PASSANTONOPOULOU, 1985; JENKYN e McCARTNEY, 1987; TEYSSIER, 1987; YANG-FENG *et al.,* 1988; TANAKA *et al.,* 1989; KING *et al.,*1990; LEUNG *et al.,* 1990; ROBERTS e TATTERSALL, 1990; PEJOVIC *et al.,*1992a,b; BERG-BAKKER *et al.,*1993; DIEBOLD *et al.,* 1996; DEGER *et al.,* 1997). PEJOVIC *et al.* (1992a) observaram anormalidades cromossômicas em 35 dos 62 carcinomas primários estudados. Dos 19 rearranjos diferentes envolvendo o cromossomo 3, 12 eram do braço curto, incluindo deleções (oito tumores) e translocações não balanceadas (quatro tumores), que levaram a perda do segmento distal 3p12-14 em nove tumores. Num trabalho seguinte, PEJOVIC *et al.* (1992b) analisaram 88 casos de tumores malignos primários de ovário dos quais 55 apresentaram aberrações estruturais. Entre as mais freqüentes observou-se o envolvimento de 3p em 17 tumores (31%). Sete linhagens celulares de carcinomas de ovário foram estudadas por BERG-BAKKER *et al.* (1993). ***Rearranjos estruturais dos cromossomos 1, 3, 7 e 11 foram***

freqüentes em 6 linhagens, dando origem a múltiplos cromossomos marcadores e à ausência das cópias normais destes cromossomos. As aberrações no cromossomo 3 resultaram em perda parcial do braço curto, tanto por deleção (3p), como por translocações não-balanceadas. JENKYN e McCARTNEY (1987) estudaram três tumores malignos de ovário. Os dois cromossomos anormais que predominaram foram 3p-, caracterizados por del(3)(p14) e 5q+. No teratoma maligno descrito pelos autores, a deleção estava presente em 48 células, sendo que um clone menor com a trissomia do cromossomo 3 foi identificado em 13 células analisadas. Outros trabalhos também encontraram trissomia deste cromossomo: YANG-FENG *et al.* (1988) analisaram citogeneticamente dois casos, um teratoma imaturo grau 3 e um ependimoma (tumores ovarianos semelhantes a tumores diferenciados do sistema nervoso central). O teratoma apresentou um cariótipo 47,XX,+3. KING *et al.* (1990), também analisando um teratoma imaturo grau 3, num total de 36 metáfases analisadas, encontraram 14 células com 48 cromossomos, +3 e +14 e uma célula apresentou 49 cromossomos, +3, +14, +14. DEGER *et al.* (1997), realizaram uma análise cariotípica de 32 pacientes com malignidades epiteliais ovarianas (8 casos de tumores limite, 16 casos de câncer invasivo com um único sítio, e 8 casos de tumores (3 LMP) tanto de sítios primários quanto metastáticos). Observaram entre os casos LMP, a trissomia do cromossomo 3 em um paciente, e entre os tumores invasivos, a trissomia do cromossomo 3 estava presente em 6 casos. Somente duas deleções de 3p foram detectadas.

Aberrações envolvendo o cromossomo 6 têm sido repetidamente associadas com carcinoma de ovário (TRENT and SALMON,1981; TEYSSIER *et*

*al.,*1985; JENKYN and McCARTNEY,1987; ROBERTS e TATTERSALL,1990; SPELEMAN *et al.,*1990; PEJOVIC *et al.,*1992a, b; VERHEST *et al.,*1992; THOMPSON *et al.,*1994; GALLION *et al.,* 1995; DIEBOLD *et al.,*1996; SAITO *et al.,* 1996; TIBILETTI *et al.,* 1996; DEGER *et al.,*1997). Trissomia do cromossomo 6 foi identificada por DIEBOLD *et al.* (1996) em sete de 18 casos de LMP (39%), em cinco de oito casos de carcinomas (62,5%) e em três (100%) casos de cistoadenomas, em um estudo por citogenética interfásica.

TIBILETTI *et al.* (1996) analisaram citogeneticamente 40 tumores primários de ovário, incluindo tumores limites e carcinomas de baixo, intermediário e alto graus de malignidade. Para verificar a freqüência de anormalidades do cromossomo 6, foram realizadas análises por citogenética convencional, FISH e clones em YACs. Em 32 dos 40 casos estudados a constituição cromossômica foi definida: oito carcinomas mostraram cariótipos complexos; 27 dos 32 tumores (84%) anormalidades numéricas e/ou estruturais do cromossomo 6. Em 14 tumores com diferentes histotipos, a única alteração do cromossomo 6 foi deleção 6q. Além disso, cinco tumores e três carcinomas serosos mostraram monossomia do cromossomo 6. Na análise por FISH, em quatro casos foi identificada a presença de um clone adicional com uma translocação envolvendo o cromossomo 6. Em 16 outros casos, clones com perdas e ganhos do cromossomo 6 foram vistos. As deleções em 6q pareceram ser terminais e de extensão variável. A posição do ponto de quebra variou entre as bandas 6q15 e 6q27. Todos os casos com deleção 6q pareceram ocorrer numa região comum em 6q27.

PEJOVIC *et al.* (1992a) descreveram anormalidades cromossômicas em 35 *dos 62 carcinomas primários estudados. Em sete tumores foram identificadas*

deleções e translocações não balanceadas, envolvendo o cromossomo 6 em 6q21-23. Dos 55 carcinomas estudados por PEJOVIC *et al.* (1992b) com aberrações, 16 delas eram estruturais e envolviam o braço longo do cromossomo 6. A análise de vinte e sete carcinomas de ovário demonstrou que 21 deles apresentavam alterações, sendo que em 11 observaram-se deleções no braço longo do cromossomo 6, oito das quais com ponto de quebra em 6q21 (ROBERTS e TATTERSALL,1990). VERHEST *et al.* (1992) observaram uma translocação (6;16)(q11;q22) em um caso de tumor de célula granulosa de ovário (GCT), em todas as 36 células analisadas. TEYSSIER *et al.* (1985) também descreveram um caso de GCT com deleção intersticial em 6q.

COOKE *et al.* (1996) realizaram uma análise detalhada da perda alélica no cromossomo 6, usando 20 marcadores microssatélites polimórficos em 56 tumores malignos, 6 benignos e 6 limites. Todos os tumores, com exceção de um limite, foram informativos para pelo menos um marcador em 6q; 46 tumores dos 56 malignos (82%) analisados demonstraram perda alélica para pelo menos um marcador de 6q, enquanto somente 4 dos 56 tumores mostraram perda de todos os marcadores informativos avaliados. Dos 56 tumores, 41 (73%) demonstraram perda alélica para marcadores na região 6q26-27. Vários estudos moleculares, usando análise de LOH, revelaram perdas freqüentes com sondas localizadas em 6q27, sugerindo que nesta região esteja um gene envolvido na carcinogênese ovariana (LEE *et al.*, 1990; SAITO *et al.*, 1996; TIBILETTI *et al.*, 1996). Além disso, deleções em 6q em tumores ovarianos limite e de baixo grau de malignidade detectadas por FISH e clones em YACs sugerem a possibilidade de que deleções

indetectáveis com citogenética convencional podem ser eventos iniciais no processo ovariano carcinogênico (SAITO *et al.*, 1996).

DEGER *et al.* (1997), na análise cariotípica de 32 tumores epiteliais malignos de ovário, identificaram dois casos com uma única aberração estrutural, t(1;6)(p10;p10), em tumores distintos histologicamente (um LMP- tumor de baixo potencial maligno- e um invasivo). Além disso, perda parcial do braço longo do cromossomo 6 foi encontrada em 12 sítios tumorais, entre eles del(6)(q12), (q13), (q14), (q15), (q16), (q23), (q24). Todas estas deleções estavam associadas a adenocarcinoma seroso papilar, avançado e pobremente diferenciado. Outras trocas de material genético foram menos numerosas, incluíndo duas translocações entre os cromossomos 6 e 14.

LEE *et al.* (1990) analisaram 19 tumores ovarianos para perdas alélicas em 18 locos cromossômicos diferentes. A incidência de LOH foi alta nos cromossomos 6q (64% no loco *ESR1*), 17p e 11p. Este foi o primeiro relato de perda alélica tumor-específica dos cromossomos 6 e 17 em carcinomas de ovário, sugerindo a existência nestes cromossomos de genes supressores cuja perda promove a doença. Devido a deleções em 6q terem sido observadas citogeneticamente em malignidades ginecológicas, incluindo carcinoma não invasivo e tumor de célula granulosa, a perda de seqüências de DNA de 6q pode indicar que a inativação de loco de um gene supressor de tumor localizado nesta região pode ser um evento inicial na tumorigênese ovariana. SPELEMAN *et al.* (1990) descreveram um tumor maligno de ovário com monossomia do cromossomo 6.

O envolvimento do cromossomo 7 vem sendo descrito em diversos trabalhos citogenéticos em tumores ovarianos (YANG-FENG *et al.,* 1988; PEJOVIC *et al.,* 1990, 1992a, 1996a,b; ROBERTS e TATTERSALL,1990; SURTI *et al.,* 1990; THARAPEL *et al.,* 1991; ATKIN e BAKER.,1993; THOMPSON *et al.,* 1994; DIEBOLD *et al.,*1996; DEGER *et al.,* 1997; ECHTEN *et al.,* 1998). A mais freqüente alteração descrita neste cromossomo é a trissomia. THARAPEL *et al.* (1991) descreveram um estudo de 16 carcinomas, dos quais sete apresentaram anormalidades cromossômicas. Em quatro destes casos foi observada trissomia do cromossomo 7, isolada em dois casos, associada com +1q, +9 e +20 em 50% das células do terceiro caso e com +10 no quarto caso. Os três restantes, apresentaram hiperdiploidia com anormalidades estruturais complexas. A trissomia do cromossomo 7 aparece como uma das alterações primárias não casuais em adenocarcinomas ginecológicos com aparente associação com estágios clínicos iniciais da doença. Também é uma alteração cromossômica comum em outros tumores limite ou benignos, sugerindo que alterações numéricas são provavelmente características do estágio neoplásico inicial em muitos tumores.

THOMPSON *et al.* (1994), analisando treze carcinomas de ovário, identificaram a trissomia do 7 como alteração primária em dois casos, sendo que um deles apresentou um clone com +7 e +8. Outros dois casos apresentaram trissomia do 7 associada com outras alterações numéricas. Os mesmos autores, referindo-se a uma revisão da citogenética de tumores epiteliais de ovário realizada por PEJOVIC *et al.* (1990), citam que +7 e +8 foram as alterações numéricas mais comuns. PEJOVIC *et al.* (1996a) analisaram citogeneticamente

14 tumores malignos de ovário. Em 5 foram detectadas alterações cariotípicas, sendo que a trissomia do 7 foi a única alteração cariotípica em um deles. DIEBOLD *et al.,* (1996) através da análise interfásica de 20 tumores LMP, 10 carcinomas invasivos e 7 cistoadenomas benignos, observaram a trissomia do 7 em 31,5% dos LMP, 70% dos carcinomas invasivos e em 43% dos cistoadenomas. Em um estudo em teratomas a trissomia do 7 também foi descrita. SURTI *et al.* (1990) analisaram 104 teratomas (100 maduros, dois maduros com degeneração maligna e dois malignos). Entre os teratomas maduros, foram detectadas aberrações numéricas em sete casos, entre elas a trissomia do 7. Nos outros 95 tumores, o cariótipo foi normal.

DEGER *et al.* (1997) estudando citogeneticamente 32 pacientes com malignidades epiteliais ovarianas, encontraram entre os casos LMP, três tumores com polissomia do cromossomo 7, além de oito casos com trissomia. A trissomia do 7 foi também descrita em dois tumores bem diferenciados, tendo sido associadas com doença em estágio inicial.

Além das aberrações numéricas, deleções no braço longo do cromossomo 7, com pontos de quebra variando de q11 a q34, foram descritas em 13 tumores malignos, incluíndo três carcinomas de próstata, três carcinomas colo-retais, quatro tumores testiculares, um de bexiga, um de mama e um de ovário metastático (ATKIN e BAKER, 1993) . Embora as deleções descritas neste trabalho pareçam ser terminais, os telômeros podem ter sido retidos e as deleções podem na verdade ser intersticiais (ATKIN e BAKER,1993). Como KERE *et al.*(1989) indicaram, deleções intersticiais podem dar origem a genes híbridos derivados de partes de genes localizados perto dos pontos de quebra proximal e

distal. Da mesma forma, a variação no ponto de quebra em 7q observados em tumores sólidos favorece a sugestão de que a perda gênica, mais que formação de gene híbrido, é o evento significativo resultante da deleção cromossômica (ATKIN e BAKER,1993). Além desse trabalho, ROBERTS e TATTERSALL (1990) descreveram deleção em 7q (7q32) em um carcinoma seroso.

Anormalidades numéricas e estruturais do cromossomo 12 são freqüentemente descritas nos tumores ovarianos, e estão relacionadas com vários tipos tumorais. Mais especificamente, a trissomia do 12 foi identificada como alteração primária recorrente em tumores de ovário, encontrada tanto em tumores benignos (fibromas, tecomas e adenomas), como em carcinomas (KUSYK *et al.,*1982; LEUNG *et al.,*1990; MITELMAN *et al.,* 1991,1993; MRÓZEK *et al.,*1992; PEJOVIC *et al.,*1992a, 1996a,b; JENKINS *et al.,* 1993; THOMPSON *et al.,*1994; HEIM e MITELMAN, 1995; TSUJI *et al.,*1997, DEGER *et al.,*1997, ECHTEN *et al.,*1998, KAWAUCHI *et al.,*1998) . Em treze carcinomas analisados, a trissomia do 12 foi encontrada como única alteração em dois casos (THOMPSON *et al.,*1994). Estudando 62 carcinomas primários, PEJOVIC *et al.* (1992a) encontraram aberrações em 35 deles, sendo que cinco apresentaram alterações cariotípicas simples, entre estas, a trissomia do 12 como única alteração (em dois casos). Em outro trabalho, foram analisados citogeneticamente 14 tumores malignos de ovário e em cinco foram detectadas alterações cariotípicas. A trissomia do 12 estava presente em 3 dos 5 tumores, sendo que em dois deles, foi a única alteração encontrada e o terceiro apresentou um cariótipo 49, XX, +5, +8, +12 (PEJOVIC *et al.,*1996a). Em 1990, LEUNG *et al.,* analisando dois fibromas benignos e um tumor maligno de célula granulosa identificaram nas duas culturas

primárias dos fibromas trissomia do cromossomo 12 (47,XX,+12) como única anormalidade. No tumor de células granulosas, além da trissomia do 12, também foi observada uma translocação, envolvendo os cromossomos 3, 9 e 21. TSUJI *et al.* (1997), analisando três casos de fibrosarcoma (maligno) e oito de fibroma celular de ovário (benigno) identificaram trissomia do cromossomo 12 nos oito fibromas celulares e trissomia e tetrassomia do cromossomo 12 em um caso de fibrosarcoma. MRÓZEK *et al.* (1992) descreveram um caso de tecoma ovariano (benigno) que apresentou +12 e uma anormalidade adicional: +4. Em outro trabalho, na análise cariotípica de 32 tumores epiteliais malignos de ovário, 5 casos apresentaram trissomia do cromossomo 12 (DEGER *et al.,* 1997). Como esta aberração também foi descrita em outros neoplasmas benignos de ovário, sugere-se que a mesma pode ser um evento primário típico importante na gênese dos tumores ovarianos benignos.

Outra aberração que envolve o cromossomo 12 e que vem sendo descrita por alguns autores é i(12p) em tumores malignos de ovário (JENKYN e McCARTNEY,1987; SPELEMAN *et al.,*1990; ECHTEN *et al.,*1998). Além disso, monossomias, perdas de heterozigosidade e outras alterações estruturais em 12 também têm sido descritas (KUSYK *et al.,*1982; SATO *et al.,*1991a).

A localização de vários proto-oncogenes e/ou genes supressores no cromossomo 17, incluindo *TP53, THRA1, BRCA1, NME1, ERBB2, RARA, 17HSD1* e *17HSD2, PHB* (SOLOMON e LEDBETTER, 1991), tem focalizado a atenção do envolvimento da LOH neste cromossomo na patogênese dos tumores ovarianos, em diversos estudos (LEE *et al.,* 1990; SATO *et al.,* 1991a; PEJOVIC *et al.,1992a*; PHILLIPS *et al., 1993*; TAVASSOLI *et al., 1993*; YANG-FENG *et al.,*

1993; GALLION *et al.,* 1995; SHENSON *et al.,* 1995; BROCK *et al.,* 1996; DIEBOLD *et al.,* 1996). TAVASSOLI *et al.* (1993) utilizaram 13 marcadores polimórficos no cromossomo 17 para examinar 12 tumores benignos e 19 malignos. A LOH no cromossomo 17 foi detectada em seis de 11 tumores malignos que foram informativos (54%). Destes, cinco mostraram LOH com todas as sondas para o cromossomo 17. Nos tumores benignos analisados, nenhuma LOH pode ser detectada com nenhuma das sondas usadas. O fato de três dos seis tumores com LOH estarem no estágio I dos carcinomas epiteliais, sugere que a perda alélica no cromossomo 17 pode ser um evento inicial na patogênese de alguns tumores ovarianos. Além disso, a perda completa de uma cópia do cromossomo 17 sugere a associação dos sítios em ambos os braços do cromossomo 17 com malignidade ovariana. Este fato é consistente com a presença de genes supressores potenciais em ambos os braços do 17. Em resumo, os resultados descritos aqui demonstraram a perda freqüente de uma cópia do cromossomo 17 como indicativo de um estágio inicial e evento freqüente na patogênese de certos tumores ovarianos. O contraste entre este padrão de LOH em tumores de ovário e as deleções intersticiais do 17 em câncer de mama sugerem o envolvimento de diferentes eventos moleculares associados ao 17 no desenvolvimento e/ou progressão de tumores malignos em mama e ovário.

YANG-FENG *et al.* (1993) avaliaram 86 locos de marcadores polimórficos quanto à LOH em todos os braços cromossômicos em tecidos tumorais de 50 pacientes. Foram observadas freqüências altamente significativas de LOH em 17p (42%) e 17q (45%). Vinte e um casos, todos de tumores epiteliais, mostraram perdas alélicas em 17p. Seis mostraram heterozigosidade no loco *D17S5*, mas

com LOH em um ou mais locos proximal a *D17S5* indicam que um loco candidato para o câncer de ovário em 17p, está proximal a *D17S5*, em 17p13.1. Para o braço longo do cromossomo 17, os dados sugeriram claramente que a seqüência alvo, pelo menos para câncer de ovário esporádico, é distal ao *D17S41 (BRCA1)*, desde que tumores mostraram a retenção de heterozigosidade nos locos proximais, indicando que um suposto gene para o câncer de ovário em 17q está distal do *BRCA1*.

Além desses estudos, GALLION *et al.* (1995) encontraram LOH para 17 p e q em 39% dos 74 tumores analisados; LEE *et al.* (1990), analisando 19 tumores ovarianos, detectaram LOH em um ou mais locos em 75% dos carcinomas. A incidência de LOH foi alta nos cromossomos 6q (64% no loco *ESR1*), 17p (75 e 64% nos locos *D17S28* e *D17S30*), e 11p (46% no loco *HRAS1*). PHILLIPS *et al.* (1993), com o objetivo de identificar uma região comum de deleção no cromossomo 17 potencialmente contendo um gene supressor tumoral, examinaram 27 carcinomas ovarianos e 3 tumores LMP para LOH em 6 locos no braço curto e 10 no braço longo. Detectaram que 90% dos carcinomas e tumores LMP apresentaram LOH em um ou mais locos no cromossomo 17; 83% dos tumores tinham LOH em um ou mais locos em p e 77% tinham LOH em um ou mais locos em q.

Alterações, envolvendo o cromossomo 19, vem sendo freqüentemente descritas (YANG-FENG *et al.,* 1988; PEJOVIC *et al.,*1992a,b, 1996a; THOMPSON *et al.,* 1994; DEGER *et al.,* 1997; ECHTEN *et al.,* 1998). PEJOVIC *et al.* (1992a) descreveram anormalidades cromossômicas em 35 de 62 carcinomas primários estudados. Todos os cromossomos apresentaram pelo menos um rearranjo

estrutural. Vários pontos de quebra foram identificados: 1p36, 1q21-23, 3p12-13, 6q21-23, 11p13-15, 19p13 e 19q13. A alteração mais freqüente foi um cromossomo 19 com material adicional no braço curto, em 16 tumores. Os cromossomos 19p+ tinham tamanho e padrão de bandeamento similares em 12 tumores, mas a origem do material adicional em 19p13 não pôde ser determinada. Nos quatro casos restantes, o 19p+ originou-se de translocações com os cromossomos 3, 11 e 14. Anormalidades em 19p têm sido indicadas como marcadores específicos de carcinomas ovarianos. A banda 19p13 está ocasionalmente rearranjada em diversos outros carcinomas, tais como os de estômago, mama, bexiga, tireóide, próstata, útero, rim e pulmão (MITELMAN *et al.*, 1991). A ocorrência de cromossomos 19p+ em diversos tipos tumorais e sempre aparecendo com numerosas outras aberrações cromossômicas sugere que ela seja uma alteração secundária.

THOMPSON *et al.* (1994) analisaram treze carcinomas de ovário. Aberrações estruturais, envolvendo cromossomo 19, foram observadas em quatro dos 13 casos (31%). Os pontos de quebra no cromossomo 19 ocorreram em 19p13 e 19q13. ECHTEN *et al.* (1998) descreveram um tumor de célula germinativa (GCT) que apresentou, entre as aberrações, uma translocação (18;19), envolvendo o braço longo do 19 em 19q13, além de monossomia do cromossomo 19. DEGER *et al.* (1997) descreveram a análise cariotípica de 32 pacientes com malignidades epiteliais ovarianas. Os cromossomos 8, 12, 13, 14, 15, 18 e **19** foram mais freqüentemente envolvidos em perdas. Quatro casos de translocações envolvendo o braço curto do cromossomo 19 foram detectadas.

Outro cromossomo relacionado diversas vezes em tumores de ovário é o 22 (LEUNG *et al.,* 1990; PEJOVIC *et al.,*1992a; VERHEST *et al.,* 1992; BERG-BAKKER *et al.,*1993; LINDGREN *et al.,* 1996; SPELEMAN *et al.,* 1997). Este cromossomo está envolvido principalmente em monossomias. PEJOVIC *et al.* (1992a), descrevendo 35 carcinomas com aberrações, encontraram a monossomia do 22 em 19 tumores (54%). SPELEMAN *et al.* (1997) descreveram a monossomia do 22 como a única anormalidade cariotípica encontrada em 16 das 19 células analisadas em um tumor ovariano de cordão sexual. A monossomia do 22 foi descrita em dois tumores ovarianos de célula granulosa (LINDGREN *et al.,* 1996). No primeiro caso, a monossomia do 22 foi encontrada com a trissomia do cromossomo 14 . No segundo, associada a várias outras alterações numéricas e estruturais. VERHEST *et al.* (1992) analisaram citogeneticamente um tumor de célula granulosa; em trinta e seis metáfases foi descrito um cromossomo dicêntrico dic(6;16), e a monossomia do 22 foi encontrada em um pequeno sub-clone de células tumorais: 44,XX,-6, dic(6;16)(q11;q22),-22 em quatro células. Isto sugere que esta alteração não ocorre ao acaso e constitui um passo citogenético secundário na progressão tumoral. Estudos cromossômicos foram realizados em dois fibromas benignos de ovário e um tumor de células granulosas de ovário. LEUNG *et al.* (1990), analisando um tumor de células granulosas, observaram trissomia do 12, e 27 células também revelaram uma translocação envolvendo os cromossomos 3, 9 e 21, e monossomia do cromossomo 22. BERG-BAKKER *et al.*(1993), estudando sete linhagens de carcinomas de ovário, observaram entre as perdas mais freqüentes a do cromossomo 22, além de uma linhagem celular ter apresentado somente 22q+ como aberração estrutural. Seis linhagens

apresentaram alterações no cromossomo X, entre elas uma translocação (X;22)(p11;q11).

6. ALTERAÇÕES GENÉTICAS EM CÂNCER DE MAMA

A iniciação tumoral e sua progressão na mama, são resultantes do acúmulo sucessivo de eventos genéticos, somáticos e constitucionais, que convertem proto-oncogenes em oncogenes ativados ou que inativam genes supressores tumorais (BIÈCHE e LIDEREAU, 1995). Desta forma, os estudos citogenéticos são muito importantes na identificação destes eventos moleculares e sítios de possíveis genes supressores e oncogenes (VALGARDSDOTTIR *et al.,* 1996). A detecção das alterações somáticas mais comuns em câncer de mama irá melhorar o entendimento dos mecanismos moleculares da tumorigênese mamária. Estes marcadores genéticos ajudarão na oncologia clínica, além de serem úteis para a predição e avaliação da eficácia da terapia (BIÈCHE e LIDEREAU, 1995).

Há algum tempo, descobriu-se a existência de genes que conferem susceptibilidade a certos cânceres ou a síndromes associadas a cânceres (*RB1, TP53, NF1, NF2, BRCA1*, KNUDSON, 1993). A heterogeneidade genética das formas familiais de câncer de mama dificulta a identificação de genes de susceptibilidade. Três regiões do genoma envolvidas na predisposição ao câncer de mama foram identificadas. Nas famílias com câncer de ovário e mama, existe uma correlação com o gene *BRCA1*, banda 17q21 (FUTREAL *et al.*, 1994; MIKI *et al.*, 1994); outro gene indentificado foi o *BRCA2*, localizado em 13q12-13

(WOOSTER *et al.*, 1994) em famílias com uma incidência aumentada somente de câncer de mama, e o gene *TP53* em 17p13 (McBRIDE *et al.*, 1986), que está implicado na Síndrome de Li-Fraumeni. Os genes *BRCA1* e *BRCA2* estão envolvidos em cerca de 50% e 35%, respectivamente, dos casos de cânceres familiais citados (REBBECK *et al.*, 1996).

As alterações genético-somáticas têm sido estudadas de diversas maneiras: citometria de fluxo, análise citogenética, hibridização *in situ* e técnicas de biologia molecular. O objetivo é determinar quais alterações genéticas ocorrem nos primeiros estágios da carcinogênese mamária ou mais tarde, quando o tumor cresce localmente ou metastaticamente (BIÈCHE e LIDEREAU, 1995).

As alterações genéticas mais freqüentemente observadas em câncer de mama são amplificações de DNA, mutações de ponto e LOH que podem inativar genes supressores. Poucos genes envolvidos no câncer de mama foram identificados molecularmente. Três regiões contendo proto-oncogenes ou genes que codificam fatores de crescimento ou seus receptores estão amplificadas em mais de 15% dos tumores mamários: o proto-oncogene *MYC* em 8q24 e *ERBB2* em 17q11-12 e a banda cromossômica 11q13 (BIÈCHE e LIDEREAU, 1995).

O gene *MYC* está amplificado em câncer de mama, sendo que a freqüência descrita da amplificação varia de 4% a 41%. Este gene codifica uma proteína nuclear de 59-62 kDa envolvida no controle do crescimento normal, diferenciação e apoptose. Além de serem conhecidos casos de expressão aumentada do gene *MYC* mas sem amplificação, sugerindo outros mecanismos de ativação, não se observou a persistência da amplificação em metástases, indicando ser um

processo relacionado ao início da progressão tumoral (BIÈCHE e LIDEREAU, 1995).

O proto-oncogene *ERBB2* codifica um fator de crescimento epidermal. Está amplificado e com expressão aumentada em cerca de 20% dos carcinomas de mama, sendo que este processo podendo ocorrer no início da tumorigênese mamária (BIÈCHE e LIDEREAU, 1995).

A região 11q13 está amplificada em 15 a 20% dos tumores de mama, podendo um ou mais genes estar envolvido na amplificação. Os primeiros genes já mapeados nesta região em câncer de mama são *FGF3* e *FGF4*. Ambos codificam fatores de crescimento de fibroblastos. Além destes genes, três outros potenciais candidatos foram mapeados em 11q13: *GSTP1, EMS1* e *CCND1* e sua amplificação está associada com expressão aumentada de seus produtos (BIÈCHE e LIDEREAU, 1995).

Outros genes já foram encontrados amplificados em tumores mamários: *FGFR1* e *FGFR2,* que codificam dois receptores de membrana cujos ligantes são fatores de crescimento de fibroblastos. São encontrados amplificados em 10% dos tumores de mama (BIÈCHE e LIDEREAU, 1995).

Técnicas citogenéticas de hibridização e estudos moleculares sugerem que outros genes não identificados estejam amplificados: região centromérica em 8p, onde hsrs (regiões homogeneamente coradas) são freqüentemente observadas; 13q31, 17q22-24, e 20q13, observados por hibridização *in situ*; e a região 1q41-44, identificada por análise molecular (BIÈCHE *et al.,* 1995).

Estudos de LOH em câncer de mama indicam regiões, contendo genes supressores tumorais já conhecidos, que ocorrem em altas freqüências: 11q15, 13q14 e 17p13, as quais podem inativar os genes supressores *WT2, RB1* e *TP53*, respectivamente (BIÈCHE e LIDEREAU, 1995). Entre estes, o gene *TP53* é o gene supressor em câncer de mama que indica a mais alta freqüência de mutações de ponto somáticas: 20 a 25%. Ele codifica uma fosfoproteína cujo principal papel fisiológico é a regulação do ciclo celular, contribuindo para a manutenção da integridade do DNA. Quando o DNA está danificado, os níveis da proteína p53 aumentam, e a fase G1 do ciclo celular é prolongada, permitindo o reparo. Vários estudos demonstram que, em certos casos, o gene *TP53* induz a apoptose, isto é, a morte celular programada (YONISH-ROUACH *et al.,* 1991).

O gene *RB1* está localizado em 13q14 e o seu produto é uma fosfoproteína nuclear de 110 kDa com atividade na regulação da transcrição celular. Estudos em tumores primários de mama mostram LOH para esse gene em até 36%, porém nestes tumores uma proporção de células ainda apresentou expressão do gene *RB1*, sugerindo que a alteração não seja um evento de iniciação, mas que ocorra na progressão do tumor (COX *et al.,* 1994).

6.1 Citogenética dos carcinomas mamários

O aperfeiçoamento das técnicas citogenéticas tem tornado possível detectar anormalidades cromossômicas clonais em 81% dos carcinomas de mama e achar múltiplos clones, relacionados ou não citogeneticamente, em 43% dos casos com uma anormalidade cariotípica (PANDIS *et al.,* 1995a). Isto sugere

novas explicações baseadas nas diferenças cariotípicas para pelo menos parte da heterogeneidade celular comumente vista ao nível fenotípico (TEIXEIRA *et al.,* 1995).

Até o início da década de 90 somente 100 carcinomas mamários com anormalidades cariotípicas haviam sido descritos, número este que aumentou para mais de 500 nos anos subseqüentes (HEIM *et al.*, 1997). Embora esta quantidade de dados seja ainda pequena, há informação suficiente para formar um quadro compreensível das alterações ao nível cromossômico que caracterizam a carcinogênese mamária. Muitas associações não casuais têm sido detectadas, e o perfil cariotípico do carcinoma de mama vem se caracterizando, com o objetivo de chegar a ser tão bem estabelecido como aquele de muitos neoplasmas hematológicos e do tecido conectivo. Muitos carcinomas de mama têm se mostrado cariotipicamente complexos, freqüentemente com cariótipos quase-triplóide e rearranjos estruturais complexos. Estes podem incluir hsr, que representam o fenômeno da amplificação gênica (mais tipicamente nos cromossomos 8 e 19) (GERBAULT-SEUREAU *et al.,* 1990,1991; PANDIS *et al.,* 1995a). Igualmente intrigante, entretanto, tem sido a confirmação de que cerca de 40% dos cânceres de mama têm somente pequenos desvios do complemento cromossômico normal. Chegou-se a esta confirmação através de estudos de bandeamento do que já era esperado com base nas evidências provenientes da citometria de fluxo. Entretanto, entre estes casos, existe considerável regularidade no padrão de aberrações adquiridas, o que tem levado ao reconhecimento de muitos subgrupos citogenéticos (PANDIS *et al.,* 1995a). A característica que define estes subgrupos é a presença de uma das seguintes aberrações estruturais

ou numéricas: i(1)(q10), der(1;16)(q10;p10), del(1)(q11-12), del(1)(q42), del(3)(p12-13p14-21), del(6)(q21-22), +7, +8, +12, +18, e +20. Todas estas aberrações têm sido detectadas de forma isolada ou como parte de cariótipos mais complexos, e elas são as candidatas principais a anormalidades cromossômicas primárias patogeneticamente importantes em câncer de mama (PANDIS *et al.,* 1995a).

O cromossomo mais comumente envolvido em alterações em carcinomas mamários é o cromossomo 1 (CRUCIGER *et al.,*1976; KOVACS, 1981; RODGERS *et al.,* 1984; TRENT, 1985b, 1993; GEBHART *et al.,*1986; GERBAULT-SEUREAU *et al.*, 1987; HILL *et al.,* 1987; ZHANG *et al.,* 1989; DUTRILLAUX *et al.,* 1990; MITCHELL e SANTIBANEZ-KOREF, 1990; HAINSWORTH *et al.,*1991; PANDIS *et al,* 1992, 1993a, 1994, 1995a,b, 1998; EMERSON *et al.,* 1993; HULTÉN *et al.,* 1993; KOKALJ-VOKAC *et al.,* 1993; LU *et al.,*1993; THOMPSON *et al.,* 1993; GIL-BENSO *et al.,* 1994; KALLIONIEMI *et al.,* 1994; MITELMAN, 1994; HEIM e MITELMAN, 1995; RIED *et al.,* 1995; TEIXEIRA *et al.,* 1996a, ADEYINKA *et al.,* 1998; RAGNARSSON *et al.,* 1999). MITCHELL e SANTIBANEZ-KOREF (1990) analisaram 14 carcinomas; em oito tumores observaram poucas alterações estruturais e cariótipos simples, e nos outros seis casos detectaram um grande número de rearranjos cromossômicos e cariótipos complexos. Entre os braços cromossômicos mais envolvidos em alterações estruturais, 1p foi observado em nove tumores. Analisando dados de 113 carcinomas, esses autores observaram que somente cinco bandas das 229 envolvidas apareciam mais freqüentemente do que se poderia esperar pelo acaso e todas localizadas no cromossomo 1, sendo 1p13 a banda mais freqüentemente

envolvida. Também, GEBHART *et al.* (1986) observaram que as bandas pericêntricas 1p13 a 1q12 estão envolvidas como marcadores em câncer de mama muito mais freqüentemente que o esperado pelo seu comprimento relativo.

PANDIS *et al.* (1992) realizaram análise citogenética de quatro casos de carcinomas mamários, que apresentaram uma ou duas cópias extras de 1q em pelo menos um dos clones aberrantes. Em dois casos foi observada a translocação 1;16, e nos outros dois, isocromossomo do braço longo do 1. Rearranjos estruturais do cromossomo 1 estavam presentes em aproximadamente 65% dos casos analisados. Tanto o der(1;16)(q10;p10) como o i(1)(q10) normalmente resultam em ganho de 1q, o que tem levantado a hipótese de que este é o efeito funcionalmente importante destes rearranjos (DUTRILLAUX *et al.,* 1990; PANDIS *et al.,* 1992). Evidência dando suporte a esta idéia vem de um estudo de FISH (KOKALJ-VOKAC *et al.,* 1993), demonstrando variação nos pontos de quebra ao nível molecular na heterocromatina constitutiva em ambos os rearranjos. Embora menos freqüente, ganho de 1q ocorre também através de translocações não balanceadas entre o cromossomo 1 e outros pares que não o 16 (PANDIS *et al.,*1995a). Ganho de todo o braço cromossômico 1q tem também sido detectado comumente por CGH (KALLIONIEMI *et al.,*1994; RIED *et al.,*1995). A descrição por PANDIS *et al.*(1994) do der(1;16) como a única anormalidade cromossômica num carcinoma de mama primário e sua metástase de linfonodo indica fortemente uma função patogeneticamente relevante na carcinogênese mamária para esta alteração cariotípica.

TRENT (1993) descreveu 34 casos de carcinomas metastáticos da mama, todos com anormalidades clonais. Alterações estruturais foram observadas em 32

casos e, numéricas em 21. Entre as estruturais, 1p e 12p foram os braços cromossômicos mais freqüentemente envolvidos. Deleções terminais foram observadas em 25 casos, sendo em 1p e 6q em maior número. A análise de tumores metastáticos pode ser importante para o entendimento da doença, ajudando no estabelecimento de um modelo para a progressão em carcinoma de mama.

TEIXEIRA *et al.*(1996a) apresentaram uma análise de tumores mamários metastáticos, onde a del(1)(q42) foi identificada, sugerindo a existência de um gene supressor tumoral nesta região, e propondo esta alteração como subgrupo citogenético.

Outro cromossomo que caracteriza subtipo citogenético é o cromossomo 6, mais especificamente alterações em 6q. Diversos trabalhos descrevem estas alterações (RODGERS *et al.,*1984; FERTI-PASSANTONOPOULOU e PANANI, 1987; GERBAULT-SEUREAU *et al.*, 1987; NIELSEN e BRIAND,1989; DUTRILLAUX *et al.,*1990; GELEICK *et al.,*1990; MITCHELL e SANTIBANEZ-KOREF, 1990; DEVILEE *et al.,*1991; FERTI-PASSANTONOPOULOU *et al.,*1991; HAINSWORTH *et al.,* 1991; EMERSON *et al.,*1993; LU *et al.,*1993; THOMPSON *et al.,*1993; TRENT *et al.,* 1993; DEVILEE e CORNELISSE, 1994; GIL-BENSO *et al.,* 1994; BIÈCHE e LIDEREAU, 1995; HEIM e MITELMAN, 1995; PANDIS, *et al.,*1995a, 1995b, 1998; STEINARSDÓTTIR *et al.,*1995; BURBANO *et al.,*1996; CAVALLI *et al.,* 1997; HEIM *et al.,*1997; ZANG *et al.,* 1998).

Deleções terminais e intersticiais em 6q, a maioria dos casos tendo perda de 6q21-22, foram descritas por diversos autores (HAINSWORTH *et al.,* 1991; LU *et al., 1993*; PANDIS *et al., 1995a*; STEINARSDÓTTIR *et al., 1995*). Além disso,

estudos de não balanceamento alélico em 6q também foram relatados (DEVILEE e CORNELISSE, 1994; BIÈCHE e LIDEREAU, 1995). Quando uma deleção cromossômica é consistentemente vista, acredita-se que genes supressores tumorais estejam envolvidos, embora sejam os mesmos desconhecidos.

DUTRILLAUX *et al.* (1990) descrevendo 30 carcinomas, encontraram perdas, envolvendo 6q entre as alterações mais freqüentes e associadas com casos com várias anormalidades. MITCHELL e SANTIBANEZ-KOREF (1990) estudaram 14 carcinomas, e entre os braços cromossômicos mais envolvidos em alterações estruturais estava 6q em sete tumores (50%). Em outro trabalho, alterações estruturais em 6q foram observadas em 30% dos casos estudados (TRENT, 1985b). PANDIS *et al.* (1995a) apresentaram a análise de 97 carcinomas de mama, sendo que 79 apresentaram alterações clonais. Entre as alterações recorrentes, del(6)(q21-23) foi observada em seis tumores, o que está de acordo com DEVILEE *et al.* (1991), que admitem que 6q é um dos braços cromossômicos nos quais a LOH é mais comum nesta doença.

Particularmente proeminente entre os subtipos citogenéticos de carcinoma de mama estão as alterações no cromossomo 3, mais especificamente deleções intersticiais de 3p, del(3)(p12-13p14-21) (RODGERS *et al.,*1984; GERBAULT-SEUREAU, 1987; NIELSEN e BRIAND, 1989; ZHANG *et al.,*, 1989; DUTRILLAUX *et al.,* 1990; MITCHELL e SANTIBANEZ-KOREF, 1990; HAINSWORTH *et al.,* 1991; EMERSON *et al.,*1993; LU *et al.,*1993; PANDIS *et al.,* 1993b, 1995a, 1997; THOMPSON *et al.,* 1993; GIL-BENSO *et al.,*1994; STEINARSDÓTTIR *et al.,* 1995; ADEYINKA *et al.,*1996, 1998; NEGRINI *et al.,*1996; PETERSSON *et al.*, 1996; TEIXEIRA, 1996a,b), todos tendo a perda de 3p14 em comum. Estas deleções

intersticiais em 3p freqüentemente ocorrem como uma aberração única, enquanto que deleções terminais maiores são vistas em cariótipos complexos (MITELMAN, 1994). Além disso, o cromossomo 3 encontra-se alterado em aproximadamente 40% dos casos descritos de tumores mamários (MITELMAN *et al.,* 1991).

PANDIS *et al.*(1993b) descreveram cinco carcinomas com deleção em 3p: um mucinoso, um medular e três carcinomas ductais. Clones com deleção intersticial em 3p foram identificados como única anomalia, sendo 3p13p14 um segmento mínimo em comum deletado em um subgrupo de carcinomas de mama estudados, e esta deleção, a única alteração, indicando ser um evento precoce na carcinogênese.

Em outro trabalho, PANDIS *et al.* (1995a) apresentaram a análise citogenética de 97 carcinomas primários de mama, 79 com alterações clonais. Neste estudo, cinco casos apresentaram del(3)(p12-13p14-21) e juntamente com seis casos prévios (ZHANG *et al.,* 1989; PANDIS *et al.,* 1993b), sugere-se que um ou mais genes supressores estejam presentes nesta região.

TEIXEIRA *et al.* (1996a) apresentaram um estudo da análise detalhada de 58 amostras de tecidos da mama tumorosas, metastáticas e macroscopicamente normais, provenientes de seis pacientes com câncer de mama, sendo um caso bilateral. Dentre os casos analisados, a deleção em 3p foi observada em cinco carcinomas. O mesmo grupo (TEIXEIRA *et al.,* 1996b) descreveu a análise citogenética de amostras de tecido de três mastectomias bilateral profiláticas e de um carcinoma *in situ* de mulheres da mesma família. A análise citogenética também detectou deleção em 3p, tanto nos três casos de mastectomia profilática como no carcinoma *in situ.*

Evidências da ocorrência de deleções em 3p como alteração freqüente em câncer de mama têm sido mostradas também através de estudos moleculares usando polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (RFLPs): SATO *et al.* (1991b) encontraram perda de heterozigosidade em 47% dos 183 tumores estudados, sendo 3p13-14.3 a região mais consistentemente envolvida, e CHEN *et al.* (1994) descreveram LOH em 3p13-14 em 41% de seus casos. Similarmente, BUCHHAGEN *et al.* (1994) detectaram deleção homozigota, rearranjo e hipermetilação em 3p14-21. Um gene supressor candidato que mapeia nesta região é o *FHIT*, que recentemente foi encontrado alterado em carcinomas da mama (NEGRINI *et al.,* 1996).

Entre os cromossomos mais freqüentemente envolvidos nas alterações cromossômicas em câncer de mama está o cromossomo 7, descrito principalmente em numéricas (+7), e também em estruturais (7p22, 7q11) (RODGERS *et al.,* 1984; FERTI-PASSANTONOPOULOU E PANANI, 1987; GERBAULT-SEUREAU, 1987; NIELSEN e BRIAND, 1989; GELEICK *et al.,* 1990; BULLERDIEK *et al.,* 1993, 1994; EMERSON *et al.,* 1993; PANDIS *et al.,* 1993a, 1995a; THOMPSON *et al.,*1993; TRENT *et al.,* 1993; 1994; GIL-BENSO *et al.,* 1994; ROHEN *et al.,* 1995; STEINARSDÓTTIR *et al.,* 1995; CAVALLI *et al.,* 1997; ADEYINKA *et al.,*1998, 1999a).

ROHEN *et al.* (1995) estudaram 185 tumores primários, encontrando alterações clonais em 39 deles, sendo 26 casos com alterações cromossômicas numéricas e 11 com alterações estruturais. Entre os 26 casos com alterações numéricas, as trissomias do 7, 8, e 18 foram recorrentes. Em três casos, a trissomia do 7 foi encontrada como alteração isolada e em outro caso estava

presente além da trissomia do cromossomo 8.

PANDIS *et al.* (1995a) apresentaram a análise citogenética de 97 carcinomas de mama primários, 79 com alterações clonais. Trinta e quatro dos 79 tumores tinham dois a oito clones, e em 31 tumores havia um único clone com apenas uma anomalia, sendo que as alterações estruturais estavam presentes em 25 casos e as numéricas em seis. Os clones citogeneticamente não relacionados foram observados em 27 dos 79 tumores. Ganhos de 7, 18 e 20 foram repetidamente observados, tanto como alterações únicas como em clones com outras alterações, estando associados não casualmente com carcinomas mamários de maneira que satisfazem o critério para serem aceitas como anomalias cromossômicas primárias. A trissomia do cromossomo 7 é sugerida não ser específica de neoplasia, pois além de ser encontrada em diferentes tipos tumorais também foi descrita em lesões não tumorosas (JOHANSSON *et al.,* 1993); a relevância patogenética de +7 em câncer de mama e também das outras alterações numéricas consistentemente detectadas permanece para ser esclarecida. Não se pode descartar que tais alterações não sejam importantes no processo carcinogênico, embora a maneira pela qual as trissomias múltiplas exerçam uma influência tumorigênica permaneça obscura.

Considerada como anormalidade cromossômica primária em carcinomas da mama, a trissomia do cromossomo 8 vem sendo freqüentemente citada em diversos trabalhos, bem como o envolvimento deste cromossomo em rearranjos estruturais e amplificação gênica (RODGERS *et al.,* 1984; GERBAULT-SEUREAU *et al.,* 1987; HILL *et al.,* 1987; DUTRILLAUX *et al.,* 1990; HAINSWORTH *et al.,* 1991; ZAFRANI *et al., 1992*; BULLERDIEK *et al., 1993*; EMERSON *et al., 1993*;

PANDIS *et al.,* 1993a; THOMPSON *et al.,* 1993; GIL-BENSO *et al.,* 1994; MULERIS *et al.,* 1994; HEIM e MITELMAN, 1995; PANDIS *et al.,* 1995a; ROHEN *et al.,* 1995; BURBANO *et al.,*1996; CAVALLI *et al.,* 1997; MARK *et al.,* 1997, 1999b).

A trissomia do cromossomo 8 pode estar associada com um subgrupo particular de carcinomas ductais, porém, como existe a ocorrência de +8 em outros tumores, bem como em tumores benignos, esta alteração pode dar vantagem de crescimento não necessariamente ligada diretamente à malignidade (BULLERDIEK *et al.,* 1993). Contrariando em parte estas afirmações, MARK *et al.* (1999b) estudaram 42 amostras de carcinomas mamários nos estágios I a IV da doença, por citogenética interfásica, detectando a trissomia do cromossomo 8 em 23 casos (54,76%). A freqüência da alteração foi de 45,45% e 50% nos casos de estágios I e II respectivamente, e 63,64% e 60% nos casos de estágios III e IV da doença. Em concordância com resultados anteriores do mesmo grupo, este trabalho estabelece que a trissomia do cromossomo 8 é um achado recorrente em câncer de mama, além de ser mais freqüente em estágios mais avançados da doença.

As manifestações citogenéticas de amplificação gênica, hsr e dm (*double minute*), raramente são encontradas em carcinomas da mama, sendo que o sítio mais comum para hsr é 8p (DUTRILLAUX *et al.,* 1990; ZAFRANI *et al*, 1992). Estudos recentes com técnicas citogenéticas moleculares têm revelado que o processo de amplificação é bem mais complexo. Embora 8p seja o sítio mais comum de hsr, o amplicon (unidade gênica amplificada) na maioria dos casos não é deste braço cromossômico, sendo mais freqüentes as amplificações das bandas

11q13, 9p13, 17q21.1, 1q21.1 (MULERIS *et al.,* 1994). Alguns genes, como *MYC*, *INT2*, e *ERBB2*, em 8q24, 11q13 e 17q11-12, respectivamente, encontram-se amplificados em 4-40% dos carcinomas mamários (DEVILEE e CORNELISSE, 1994; BIÈCHE e LIDEREAU, 1995).

A trissomia do cromossomo 12 também foi descrita como um subgrupo citogenético nos carcinomas mamários. Vários autores encontraram esta aberração em diversos estudos (GIL-BENSO *et al.,*1994; STEINARSDÓTTIR *et al.,* 1995; ADEYINKA *et al.,* 1997; TEIXEIRA *et al.,* 1997; PANDIS *et al.,* 1998; MARK *et al.,* 1999b). Em 1997, ADEYINKA *et al.* descreveram quatro carcinomas de mama com a trissomia do cromossomo 12, sendo em um caso a única alteração cariotípica presente e em três casos, a presença de outras alterações além de +12 indicaram evolução clonal. Também MARK *et al.* (1999b), estudando por citogenética interfásica 40 amostras de carcinomas mamários, encontraram em 12 casos (30%) a trissomia do cromossomo 12.

A trissomia do cromossomo 18 também é encontrada com freqüência em câncer de mama (ZHANG *et al.,*1989; BULLERDIEK *et al.,*1993; PANDIS *et al.,*1993a; TRENT, 1993; BULLERDIEK *et al.,*1994; ROHEN *et al.,*1995; ADEYINKA *et al.,* 1997, 1998; CAVALLI *et al.,* 1997). BULLERDIEK *et al.* (1994) descreveram um carcinoma mamário medular, com 12 células (42,56%) apresentando +18 como a única alteração, indicando a trissomia do 18 como primeira anormalidade citogenética que pode ter um papel na gênese de carcinomas medulares.

A trissomia do cromossomo 20 é outra alteração recorrente em carcinomas mamários (*RODGERS et al.,1984*; *THOMPSON et al.,1993*; *TRENT et al., 1993*;

PANDIS *et al.,* 1995a, 1998; STEINARSDÓTTIR *et al.,* 1995; BURBANO *et al.,*1996; CAVALLI *et al.,* 1997; TEIXEIRA *et al.,* 1997, 1998; ADEYINKA *et al.,* 1998). PANDIS *et al.* (1995a) sugeriram que a trissomia do cromossomo 20 pode estabelecer um subgrupo em câncer de mama, sendo vista tanto como alteração única (+20 não tinha sido descrita antes como única anomalia em carcinomas da mama) como em clones com outras alterações, estando associada não casualmente com carcinomas mamários, de maneira que satisfaz o critério para ser aceita como anomalia cromossômica primária.

II. OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são:

1. Contribuir para o conhecimento citogenético dos tumores ovarianos, bem como dos carcinomas mamários;

2. Verificar a casualidade da ocorrência das alterações cromossômicas observadas nos diferentes cromossomos;

3. Comparar os diferentes tipos de alterações cromossômicas observadas entre os tumores de ovário e mama, tentando correlacionar os diferentes tipos tumorais;

4. Tentar estabelecer o envolvimento das alterações identificadas na gênese e progressão tumoral;

5. Associar os pontos de quebra encontrados com oncogenes e genes supressores já identificados nas mesmas regiões cromossômicas.

III. MATERIAL E MÉTODOS

1. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Foram estudados citogeneticamente, após remoção cirúrgica, cinco carcinomas mamários, quatro carcinomas ovarianos e um teratoma ovariano maduro.

Os dados clínicos e a classificação histopatológica dos tumores ovarianos e carcinomas mamários são apresentados nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1: Tumores Ovarianos: dados clínicos e classificação histopatológica

Caso	Idade	Tipo Histológico	Grau de Diferenciação	Multicentricidade
1	67	Adenocarcinoma seroso	?	não
2	25	Teratoma Maduro		
3	73	Adenocarcinoma seroso	moderadamente diferenciado	não
4	72	Adenocarcinoma seroso	pouco diferenciado	não
5	65	Adenocarcinoma seroso	bem diferenciado	sim ov. esquerdo e direito

Tabela 2: Carcinomas Mamários: dados clínicos e classificação histopatológica

Caso	Idade/Sexo	Tipo Histológico	Grau de Diferenciação	Envolvimento de Linfonodos	Multicentricidade
1	47 / F	Ca. ductal invasor	I	não	Não
2	58 / F	ca. lobular invasor	?	não	Não
3	47 / F	ca. ductal	?	?	?
4	42 / F	ca. ductal invasor	III	sim	Não
5	42 / F	ca. ductal invasor	II	sim	Não

2. COLETA DO MATERIAL

As amostras de tecidos tumorais foram coletadas no Hospital Nossa Senhora das Graças em Curitiba e foram avaliadas histopatologicamente pelo Serviço de Anatomia Patológica do mesmo hospital.

O material foi coletado assepticamente a fresco, em frascos estéreis, durante a cirurgia. Cada frasco continha o nome, idade e RG do paciente, a data da cirurgia e o nome do cirurgião responsável.

O material foi encaminhado o mais breve possível para o Laboratório de *Citogenética Humana do Departamento de Genética da Universidade Federal do*

Paraná, onde foi processado assepticamente, em sala apropriada, contendo fluxo laminar e lâmpadas UV.

3. DISSOCIAÇÃO E PREPARO DO MATERIAL PARA CULTURA

O tecido foi seccionado em Placa de Petri estéril com auxílio de tesoura e pinças cirúrgicas estéreis, removendo-se áreas gordurosas, necrosadas e sanguinolentas. O tecido limpo foi passado para outra placa de Petri, sendo então seccionado em fragmentos bem pequenos. Logo após, o material foi transferido para tubo estéril de centrífuga e lavado em 10 ml de meio de cultura HAM F-10, com posterior centrifugação a 500 rpm durante 12 minutos. O sobrenadante foi descartado e, nos casos em que o material ainda apresentava resíduos de gordura ou sangue, o procedimento anterior foi repetido. A técnica utilizada para a preparação das células mamárias e ovarianas para o cultivo foi a de desagregação enzimática, através da colagenase, que é uma enzima hidrolítica não citotóxica, que não afeta a estrutura das células tumorais. A introdução da colagenase e da cultura primária a curto prazo (WAKE *et al.*, 1981; GIBAS *et al.*, 1984; LIMON *et al.*, 1986) tem possibilitado a obtenção de um número razoável de metáfases com boa qualidade cromossômica. A colagenase IV (Sigma) 0,3%, foi adicionada após a secção e lavagem do material, aproximadamente 5 a 10 ml da solução. O material foi incubado a 37°C, de trinta minutos a uma hora, dependendo do grau de desagregação das células. A suspensão de células foi novamente lavada em meio de cultura e centrifugada, como anteriormente já descrito, sendo repetido o procedimento por duas vezes. Às células foi adicionado meio de cultura suplementado com 20% de soro bovino fetal, dando um volume

final de 6 a 8 ml. A suspensão foi então transferida para dois frascos de cultura de tecido e incubada a 37°C por 1 hora, para que os fibroblastos pudessem aderir à superfície dos frascos, ficando as células tumorais em suspensão (DASGUPTA *et al.*, 1987). Esta suspensão foi cuidadosamente retirada e redistribuída em outros frascos, de três a cinco para cada tumor, e incubada a 37°C.

4. MÉTODO DE CULTURA E COLHEITA

O material não foi manipulado por um período de dois a quatro dias, para que houvesse uma perfeita adesão celular à superfície do frasco. Após este período, o material foi cultivado em meio de cultura acrescido de 20% de soro bovino fetal, trocado a cada três a quatro dias, sempre em fluxo laminar além do uso de bico de Bunsen, com o cuidado máximo para evitar contaminação. O crescimento e a atividade mitótica foram acompanhados pela observação do material em microscópio invertido diariamente. A partir destas observações tornou-se possível determinar o momento certo para repique e colheita da cultura para cada frasco. O cultivo foi de curto a médio prazo e a colheita foi realizada após a sincronização celular, para aumentar o número e a qualidade das metáfases.

O repique das culturas era realizado quando as células apresentavam uma alta atividade mitótica formando muitas áreas de confluência. O procedimento consistia em, após a remoção do meio de cultura, adicionar 3 ml de solução de tripsina 1:250, a 4°C com o frasco na horizontal e após 30 segundos, retirá-la e, com o frasco inclinado, aguardar 5 a 10 minutos para que as células se desprendessem suavemente. Para que a ação da tripsina fosse bloqueada foram adicionados 2 ml de soro bovino fetal ao frasco. O material foi então transferido

para um novo frasco e acrescentaram-se 2 ml de meio de cultura. Ao frasco que sofreu o repique (mãe), acrescentaram-se 3 ml de meio de cultura com 20% de soro bovino fetal. Após 8 a 24 horas, o frasco filho apresentava-se com um número ótimo de células e sem áreas de confluência, sendo o momento ideal para a colheita da cultura.

O método de sincronização celular utilizado foi o de YUNIS (1976) com modificações. Adicionaram-se ao frasco de cultura, contendo aproximadamente 3 ml de meio suplementado com soro bovino fetal, 0,2 ml de metotrexato (MTX), a uma concentração de 10^{-5} M, por 17 horas, a fim de bloquear as divisões celulares na fase S. Transcorrido este período, as células foram liberadas pela ação de 0,2 ml de timidina, a 10^{-3} M durante 8 horas para os carcinomas mamários e 6 horas para os tumores de ovário, sendo então adicionada a colchicina (0,2 ml a 0,016%) por 13 e 10 horas para mama e ovário respectivamente. Decorrido este tempo, as células foram removidas da superfície do frasco através de um tratamento com solução de tripsina 1:250, da mesma forma do repique. O material foi então transferido para tubos de centrífuga e centrifugado a 800 rpm por 10 minutos. Retirou-se o sobrenadante e adicionaram-se lentamente, 6 ml de solução hipotônica (KCl 0,075 M) a 37°C; ressuspendeu-se o material com o auxílio de pipeta Pasteur e incubou-se a 37°C durante 10 minutos e centrifugou-se durante 8 minutos. Retirando-se o sobrenadante, foi adicionado fixador (3 metanol : 1 ácido acético glacial), aos poucos até completar 5 ml. O fixador foi trocado duas vezes após centrifugação a 800 rpm durante 8 minutos.

5. *MÉTODO DE ANÁLISE CROMOSSÔMICA*

Para a obtenção do número modal, o material da primeira lâmina de cada preparação celular colhida foi submetido ao método de coloração convencional com solução de Giemsa (Merck) diluída em tampão fosfato 0,06M, pH 6,8 por 6 minutos. Este material foi utilizado para o cálculo do número cromossômico modal, sendo contadas em média 72,2 ± 33,93 células por caso.

O material das demais lâminas foi submetido a técnica de bandeamento cromossômico. Através do bandeamento G foram analisadas, em média, 17,8 ± 2,7 nos tumores de ovário e 41,8 ± 0,84 células nos carcinomas de mama, a fim de se detectar as alterações cromossômicas numéricas e estruturais. As anormalidades estruturais foram consideradas clonais quando uma mesma aberração foi detectada em duas ou mais metáfases. As numéricas foram consideradas clonais quando presentes em pelo menos duas células no caso de cromossomo adicional e em pelo menos três células para perda cromossômica (ISCN, 1995). Em casos onde havia duas ou mais células monossômicas para um determinado cromossomo e uma célula ou mais com nulissomia para este mesmo cromossomo, esta foi considerada para a clonalidade da monossomia em questão. Nestes casos, na tabela de alterações cromossômicas não consta a nulissomia e sim a monossomia clonal do determinado cromossomo.

6. BANDEAMENTO CROMOSSÔMICO GTG

A técnica utilizada foi a de SCHERES (1972), com modificações. Após duas horas na estufa ou no dia seguinte após preparadas, as lâminas foram imersas em solução salina duplamente citratada (2SSC) por 5 minutos, lavadas com água

destilada, e colocadas em solução de tripsina diluída em solução salina 0,9%, por alguns segundos, conforme a preparação. Lavadas em solução salina, as lâminas foram então coradas com Giemsa diluído em tampão fosfato pH 6,8 durante 6 minutos. Realizou-se a análise ao microscópio e todas as metáfases analisadas foram fotografadas.

7. FOTOGRAFIA

As fotos foram feitas em microscópio comum equipado com câmara fotográfica automática. Utilizou-se o filme Agfa Copex Pan A.H.U. 35 mm, 12ASA, objetiva 100, filtro cinza. O filme foi revelado utilizando-se o revelador D-72, por 8 minutos a 20°C, e o fixador Kodak, por 15 minutos a 20°C. As cópias foram feitas em papel Kodabrome Print RCF3 Kodak, com revelador Kodak, por um minuto a 20 ºC, e o fixador Kodak, por 15 minutos a 20 ºC. As fotos foram recortadas para a montagem dos cariótipos previamente analisados ao microscópio.

8. MEIO DE CULTURA E SOLUÇÕES UTILIZADAS

Para o preparo de 1 litro de meio de cultura, foi utilizado 9,82 g de meio HAM-F10 (Sigma), 0,5 ml de insulina (0,01U/ml), 5 ml de vitaminas TC minimal Eagle 100x (Sigma), 1,5 ml de glutation (15 μg/l), 292 mg de L-glutamina, 1 ml de penicilina (10 U/ml), 1 ml de neomicina (100mg/ml), 1,4 g de bicarbonato de sódio, diluídos em água milli-Q autoclavada, para um pH final de 7,0. Para o

armazenamento, o meio foi filtrado e aliquotado em frascos estéreis e guardado em geladeira.

A solução de colagenase foi obtida utilizando-se colagenase tipo IV (Sigma), dissolvida em 5 ml de meio de cultura a uma concentração de 0,2% e esterilizada por filtração. A solução foi preparada no momento do uso, e para cada tumor foi utilizado de 1 a 3 ml, dependendo do tamanho.

A solução de tripsina para repique e colheita da cultura (1 litro) foi preparada utilizando 8,0 g de NaCl (137mM), 0,4 g de KCl (5,4mM), 1,0 g de dextrose (5mM), 0,06 g de Na_2HPO_4 (0,42mM), 0,06 g de KH_2PO_4 (0,44mM), 0,252 g de $NaHCO_3$ (3mM), 0,25 g de EDTA (0,53mM), 0,02 g de vermelho de fenol, 1,5 g de tripsina 1:250, diluídos em água milli-Q autoclavada. O pH final em 7,4. Para o armazenamento, a solução foi filtrada e aliquotada em frascos estéreis e guardada em geladeira.

A solução de metotrexato foi preparada a partir de uma solução-mãe de 25 mg/ml. Foi utilizado 0,73 ml dessa solução diluídos em 39,27 ml de meio de cultura, com concentração final de 10^{-5} M. A solução é aliquotada em frascos estéreis de 5 ml envoltos em papel alumínio e armazenada em freezer a –20°C.

A solução de timidina foi preparada dissolvendo-se 5 mg de timidina (Sigma) dissolvidos em 20 ml de meio de cultura, numa concentração final de 10^{-3} M. A solução é aliquotada em frascos estéreis de 5 ml envoltos em papel alumínio e armazenada em freezer a –20°C.

A solução de colchicina utilizada foi preparada com concentração final de 0,016%. O armazenamento foi feito em geladeira.

A solução hipotônica foi preparada diluíndo 0,56 g de KCl em 100 ml de água destilada estéril, a uma concentração de 0,075M, armazenada a 37°C.

A solução salina duplamente citratada (2SSC) foi preparada com 17,35 g de NaCl, 8,82 g de citrato de sódio, dissolvidos em 1000 ml de água destilada, e pH final de 7,0. A solução foi armazenada em geladeira.

A solução de tripsina para bandeamento GTG foi preparada utilizando-se 0,03 tripsina (tipo II Sigma) diluídos em 40 ml de solução salina 0,9%, preparada no momento do uso.

O corante foi preparado com 1 ml de Giemsa (Merck), 10 ml de tampão fosfato Sorensen 0,06M, pH 6,8 e completado com água destilada para um volume final de 40 ml. Esta solução foi preparada no momento do uso.

9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste do χ^2 , conforme BEIGUELMAN (1988) foi utilizado para:

a) Verificar a casualidade de ocorrência das aberrações cromossômicas clonais nos diversos cromossomos do genoma, nos carcinomas de ovário e mamários;

b) Verificar a significância das diferenças das proporções de aberrações estruturais e numéricas e das monossomias e trissomias nos carcinomas de ovário e mamários;

c) Verificar a significância das diferenças das proporções de aberrações estruturais e numéricas e das monossomias e trissomias entre os carcinomas de ovário e mamários.

IV. RESULTADOS

1. TUMORES OVARIANOS

A análise após bandeamento GTG foi realizada em todos os casos de tumores ovarianos. A freqüência de células normais nestes casos variou de 6,25 a 20 %.

Os tumores ovarianos estudados apresentaram, após a contagem de uma média de 49,8 células por tumor, um número modal hipodiplóide (casos 1, 3 e 5) e diplóide (casos 2 e 4).

O resumo dos dados citogenéticos estão apresentados na tabela abaixo.

Tabela 3: tipo histológico, número de dias em cultura, número modal e número de células analisadas após o bandeamento GTG, dos 5 tumores ovarianos

CASO N°.	**TIPO HISTOLÓGICO**	**N°. DIAS "IN VITRO"**	**N°. MODAL**	**N°. DE CÉLS. EM BANDA G**
1	Adenocarcino-ma Papilífero	20	hipodiplóide	20
2	Teratoma maduro	69	46	19
3	Cistoadenocar-cinoma seroso	22	hipodiplóide	14
4	Adenocarcino-ma Seroso	66	46	20
5	Cistoadenocar-cinoma seroso	24	hipodiplóide	16

CASO 1: ADENOCARCINOMA PAPILÍFERO

Foram obtidas células metafásicas em um frasco de cultura primária (II), após 20 dias de cultivo "in vitro". O número modal foi igual ao hipodiplóide (35-45 cromossomos), observado em 68% das 25 células tumorais analisadas com coloração convencional, conforme tabela abaixo.

Tabela 4: Número modal por frasco e total

Número de Cromossomos	Número de células/ frasco de cultura
	II
46	08
45	03
44	05
43	02
42	02
41	02
40	02
35	01
Total	25

A análise cromossômica, após bandeamento GTG, foi possível em 20 metáfases. As fórmulas cariotípicas estão apresentadas a seguir:

36,-X,**-X, i(2)(p10),-8**,-8,-14,-14,-15,**-17**,-17,-21

37,XX,+2,-3,-3,-5,-7,-14,-14,-16,-16,-19,-21

41,XX,**del(1)(q42)**,-4,**-8**,-16,**-17,-22**

43,XX,-11,-13,-18

43,X,**-X**,-2,del(3)(p24),+4,-6,-7,-12,**+13,+14,+18**,-19,**-22**

44,XX,-9,-13,**-17,+18**

45,XX,-2

45,XX,**-17**

45,XX,**-22** [2]

45,X,**-X**,-1,+21

46,XX [4]

46,XX,-1,-11,**+13,+14**

46,XX,**del(1)(q42)**

46,XX,**i(2)(p10)**

46,XX,**-8,+18**

47,XX, del(6)(q23)**,+14**

Através da análise destas 20 células foi obtido o seguinte cariótipo composto:

36-47,XX,-X [3],del(1)(q42) [2],i(2)(p10)[2],-8 [3],+13 [2],+14 [3],-17 [4], +18 [3],-22 [4] [cp13] / 46,XX [4]

Das 20 metáfases analisadas, quatro (20%) eram normais e 16 (80%) apresentaram alterações cromossômicas, sendo que destas, 13 (81,25%) apresentaram alterações clonais e três (18,75%) apresentaram alterações não clonais. Foram observadas 34 alterações diferentes (seis nulissomias, 18 monossomias, seis trissomias e quatro alterações estruturais), sendo que destas

nove (27,28%) eram clonais: quatro monossomias, três trissomias e duas alterações estruturais.

As alterações cromossômicas observadas neste caso estão descritas na tabela 5 e ilustradas nas figuras 1 a 4, onde as flechas indicam as alterações clonais.

Tabela 5: Alterações cromossômicas observadas no caso 01

ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS	**NÚMERO DE CÉLULAS**	**FREQÜÊNCIA (%) (Céls.alteradas/total)**	**FRASCO DE CULTURA**
NUMÉRICAS			
Clonais			
-17, -22	04	20	II
-X, -8	03	15	II
+14, +18	03	15	II
+13	02	10	II
Não clonais			
-1,-2,-7,-11,-13,-14, -14,-19,-21	02	10	II
-3,-3,-4,-5,-6,-9,-12, -15,-16,-16-16,-18	01	05	II
+2,+4,+21	01	05	II
ESTRUTURAIS			
Clonais			
del(1)(q42)	02	10	II
i(2)(p10)	02	10	II
Não clonais			
del(3)(p24)	01	05	II
del(6)(q23)	01	05	II

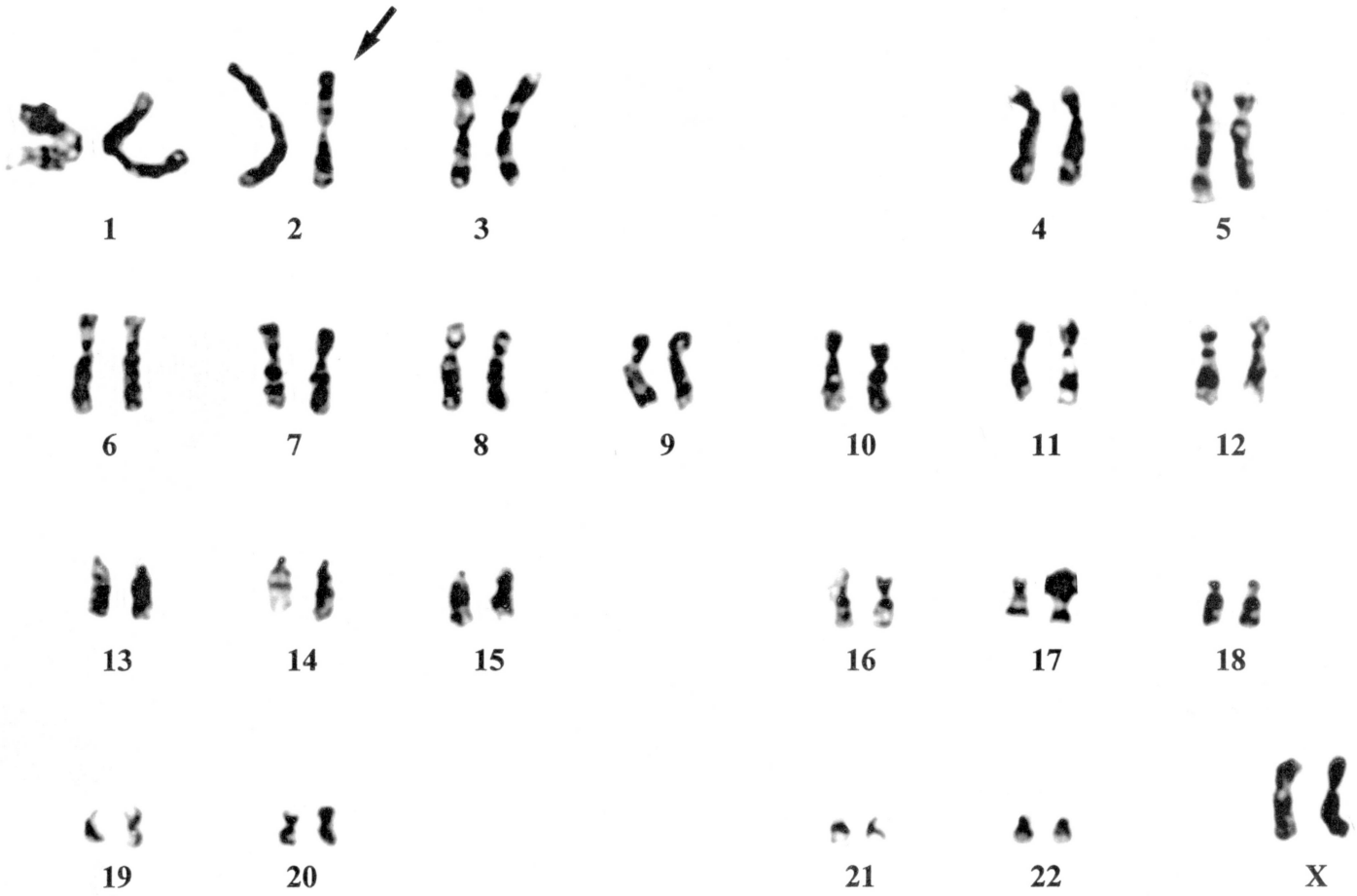


Figura 1 – Cariótipo representativo do caso 1: 46,XX,**i(2)(p10).**

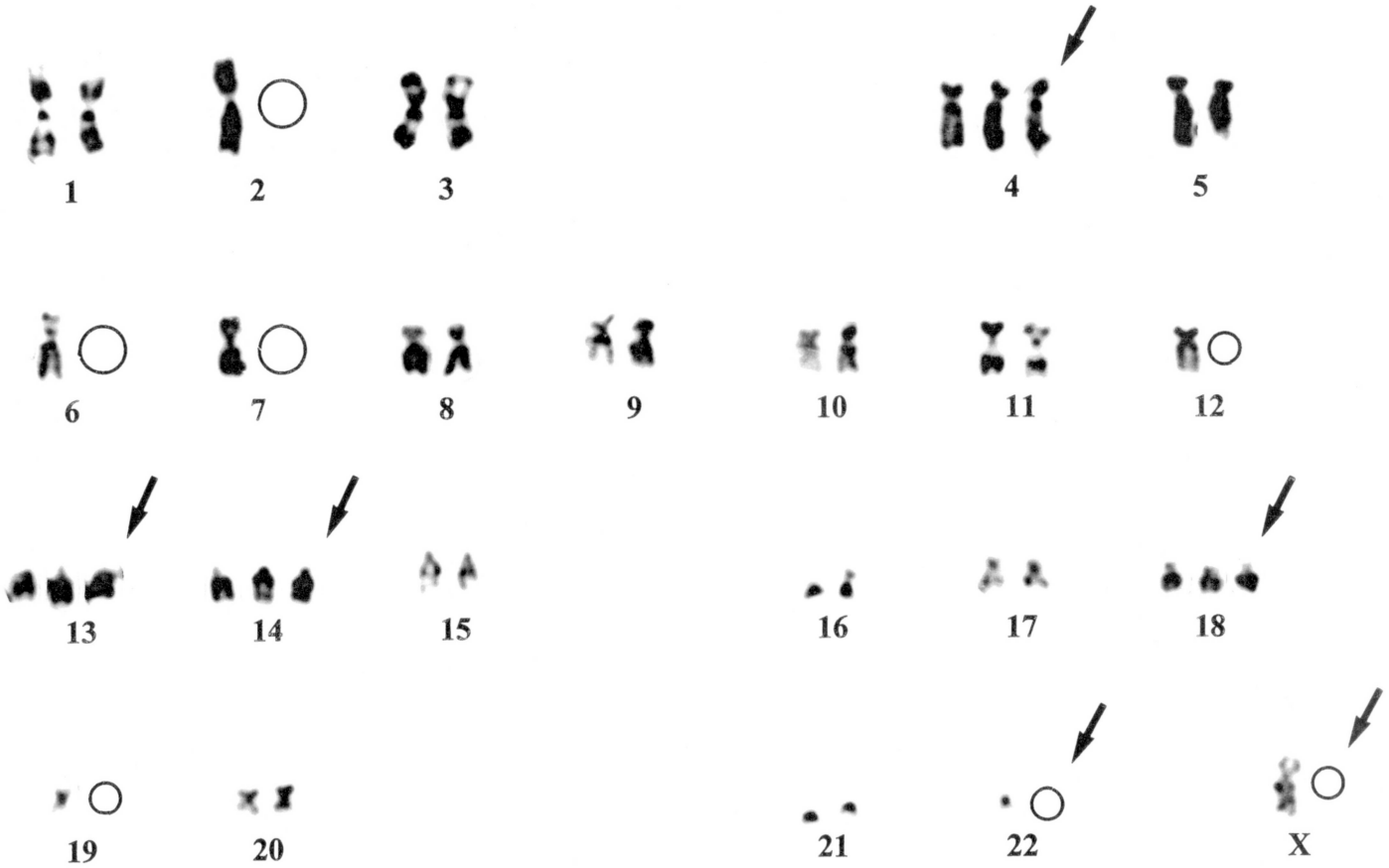


Figura 2 – Cariótipo representativo do caso 1: 43,X,**-X**,-2,del(3)(p24),+4,-6,

-7,-12,**+13,+14,+18**,-19,**-22**.

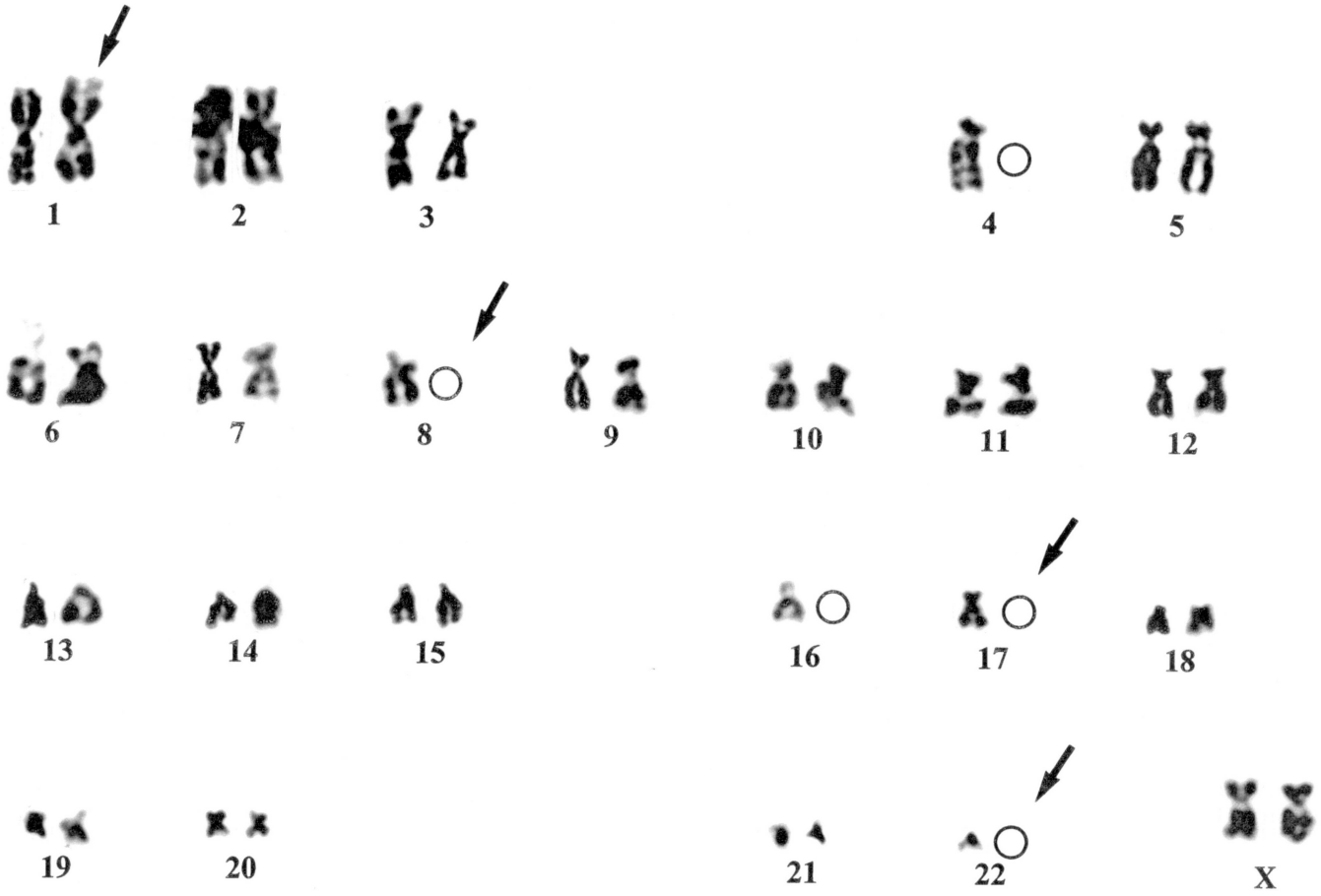


Figura 3 – Cariótipo representativo do caso 1: 41,XX,**del(1)(q42),**-4,**-8**,-16,**-17**,**-22**.

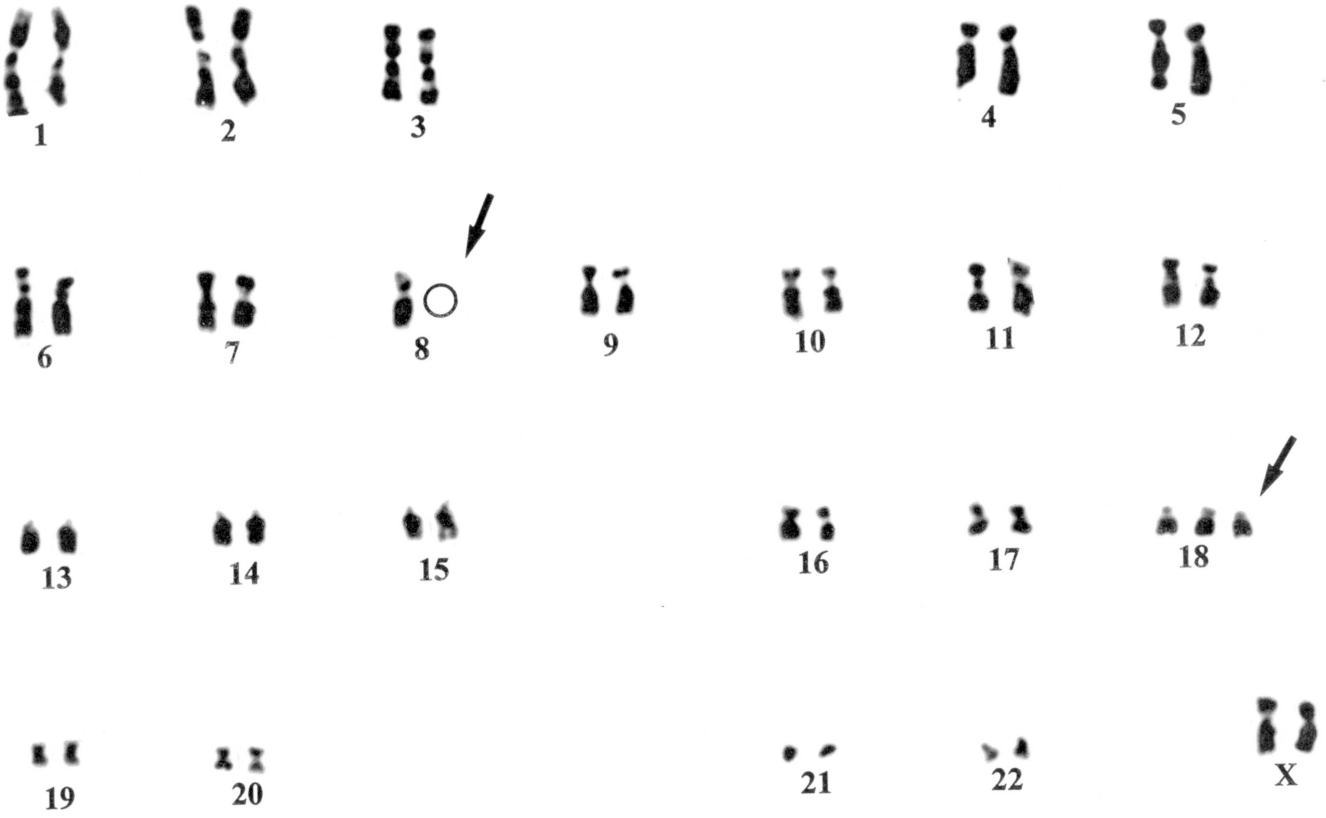


Figura 4 – Cariótipo representativo do caso 1: 46,XX,-**8,+18.**

CASO 2: TERATOMA MADURO

Foram obtidas células metafásicas em dois frascos de culturas primárias (III e V), após 69 dias de cultivo "in vitro". O número modal, igual ao diplóide, foi observado em 43% das 72 células tumorais analisadas com coloração convencional, conforme tabela abaixo.

Tabela 6: Número modal por frasco e total

Número de Cromossomos	Número de células / frasco de cultura		
	III	V	Total
92	02	04	06
>75	0	03	03
52	0	01	01
47	01	0	01
46	12	19	31
45	04	06	10
44	0	03	03
43	03	05	08
42	0	05	05
40	01	01	02
38	01	0	01
32	0	01	01
Total	24	48	72

A análise cromossômica, após bandeamento GTG, foi possível em 19 metáfases. As fórmulas cariotípicas estão apresentadas a seguir:

39,XX,-3,-4,-12,-12,**-16,-17,-21**

40,X,-X,**-6**,-12,**-14**,-18,**-21**

41,XX,-1,**-14,-16**,-20,-22

43,XX,-5,**del(5)(p15)**,-10,**-13,+14,-16**

43,XX,**-6,**add(13)(p10),**-21**,-22

44,XX,+6,-8,**-16**,-19

44,X,**del(X)(q25),-6**,-11,**-13**,-13,**+14, del(17)(p11),+21**

44,X,**del(X)(q25), del(5)(p15)**,-15,-15, **del(16)(p11)**

44,XX,+12,**-13,-16,-17**,-17,**+21**

45,XX,**-17**

45,X,**del(X)(q25)**,-9

45,XX,-9,**del(16)(p11)**

46,XX [3]

46,X,**del(X)(q25)**

46,X,**del(X)(q25),del(17)(p11)**

46,XX,**-14,+21**

46,XX,**+14,-21**

Através da análise destas 19 células foi obtido o seguinte cariótipo composto:

39-46,XX,del(X)(q25)[5],del(5)(p15)[2],-6[3],-13[3],-14[3],+14[3],-16[5],
del(16)(p11)[2],-17[3],del(17)(p11)[2],-21[4],+21[3] [cp16] / 46,XX[3]

Das 19 metáfases analisadas, três (15,79%) eram normais e 16 (84,21%) apresentaram alterações cromossômicas clonais. Foram observadas 33 alterações diferentes (quatro nulissomias, 20 monossomias, quatro trissomias e cinco alterações estruturais), sendo que destas 12 (36,36%) eram clonais: seis monossomias, duas trissomias e quatro alterações estruturais.

As alterações cromossômicas observadas neste caso estão descritas na tabela 7 e ilustradas nas figuras 5 a 8, onde as flechas indicam as alterações clonais.

Tabela 7: Alterações cromossômicas observadas no caso 02

ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS	**NÚMERO DE CÉLULAS**	**FREQÜÊNCIA (%) (Céls.alteradas/total)**	**FRASCO DE CULTURA**
NUMÉRICAS			
Clonais			
-16	05	26,31	V
-21	04	21,05	V
-6,-13,-14,-17	03	15,79	V
+14, +21	03	15,79	V
Não clonais			
-9,-22	02	10,53	V
-X,-1,-3,-4,-5,-8,-10, -11,-12,-12-12,-15-15,-18,-19,-20	01	5,26	V
+6, +12	01	5,26	V
ESTRUTURAIS			
Clonais			
del(X)(q25)	05	26,31	V
del(5)(p15)	02	10,53	V
del(16)(p11)	02	10,53	V
del(17)(p11)	02	10,53	V
Não clonais			
add(13)(p10)	01	5,26	V

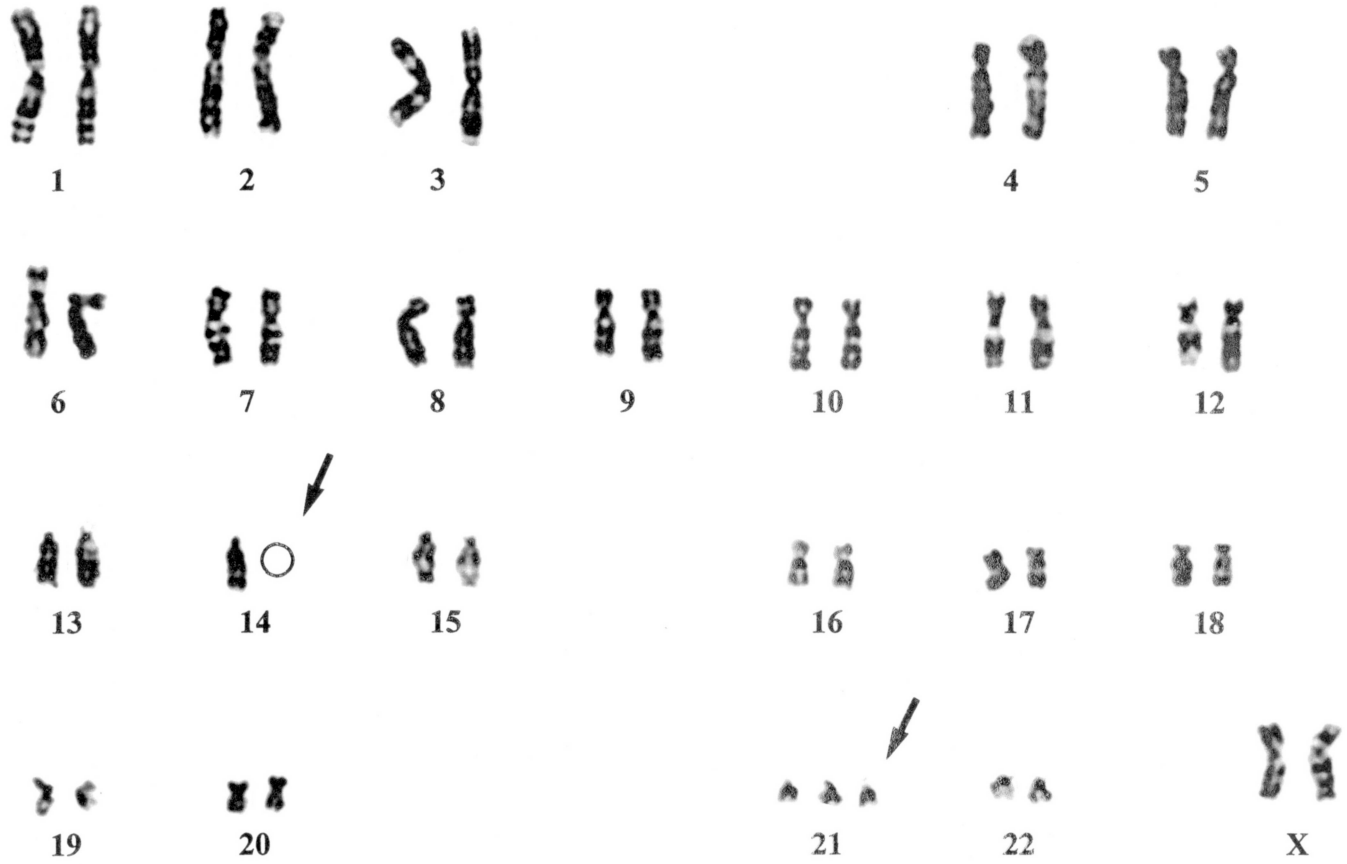


Figura 5 – Cariótipo representativo do caso 2: 46,XX,**-14,+21**.

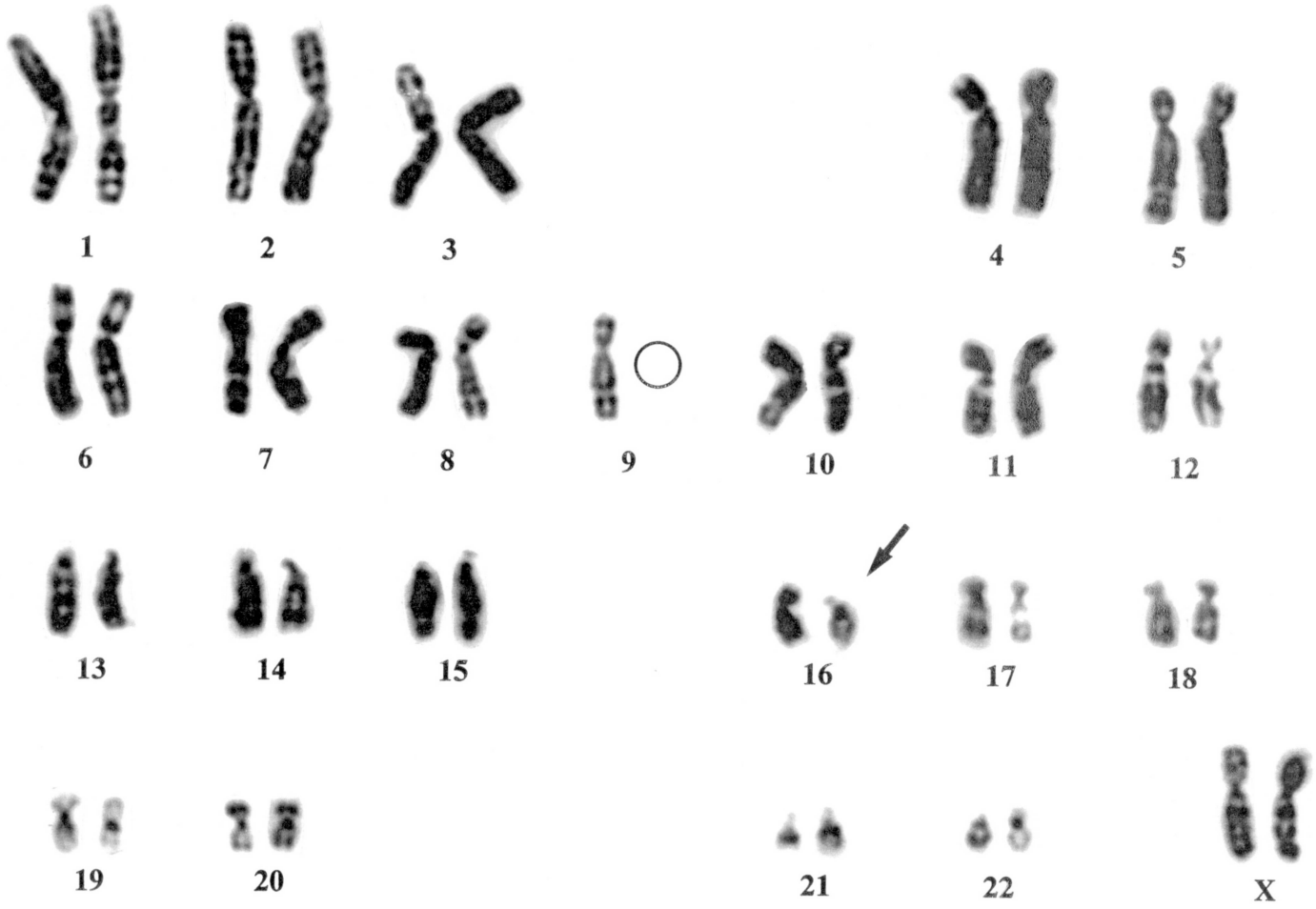


Figura 6 – Cariótipo representativo do caso 2: 45,XX,-9,**del(16)(p11)**.

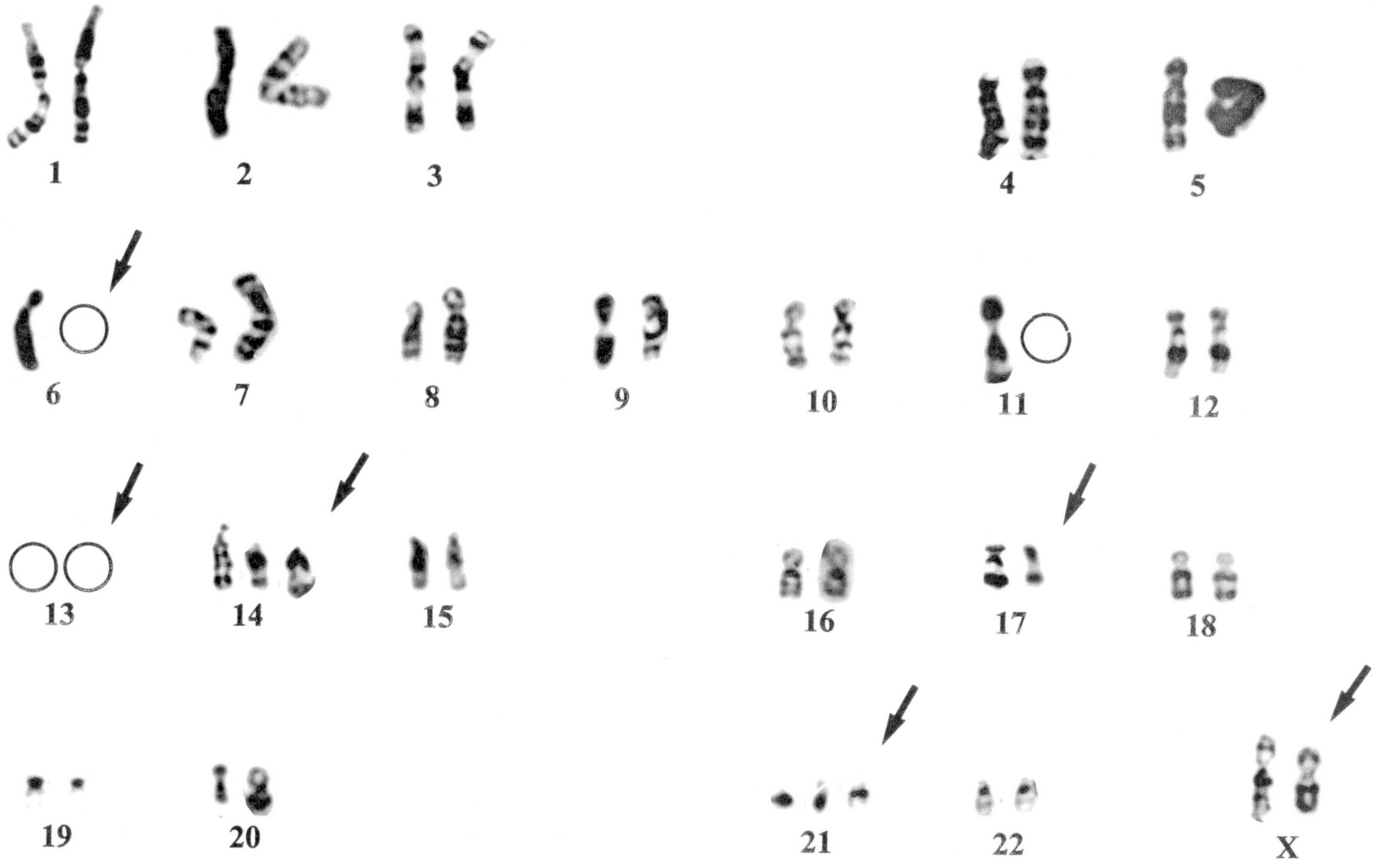


Figura 7 – Cariótipo representativo do caso 2: 44,X,**del(X)(q25),-6,**-11,-13, -13,**+14,del(17)(p11),+21**.

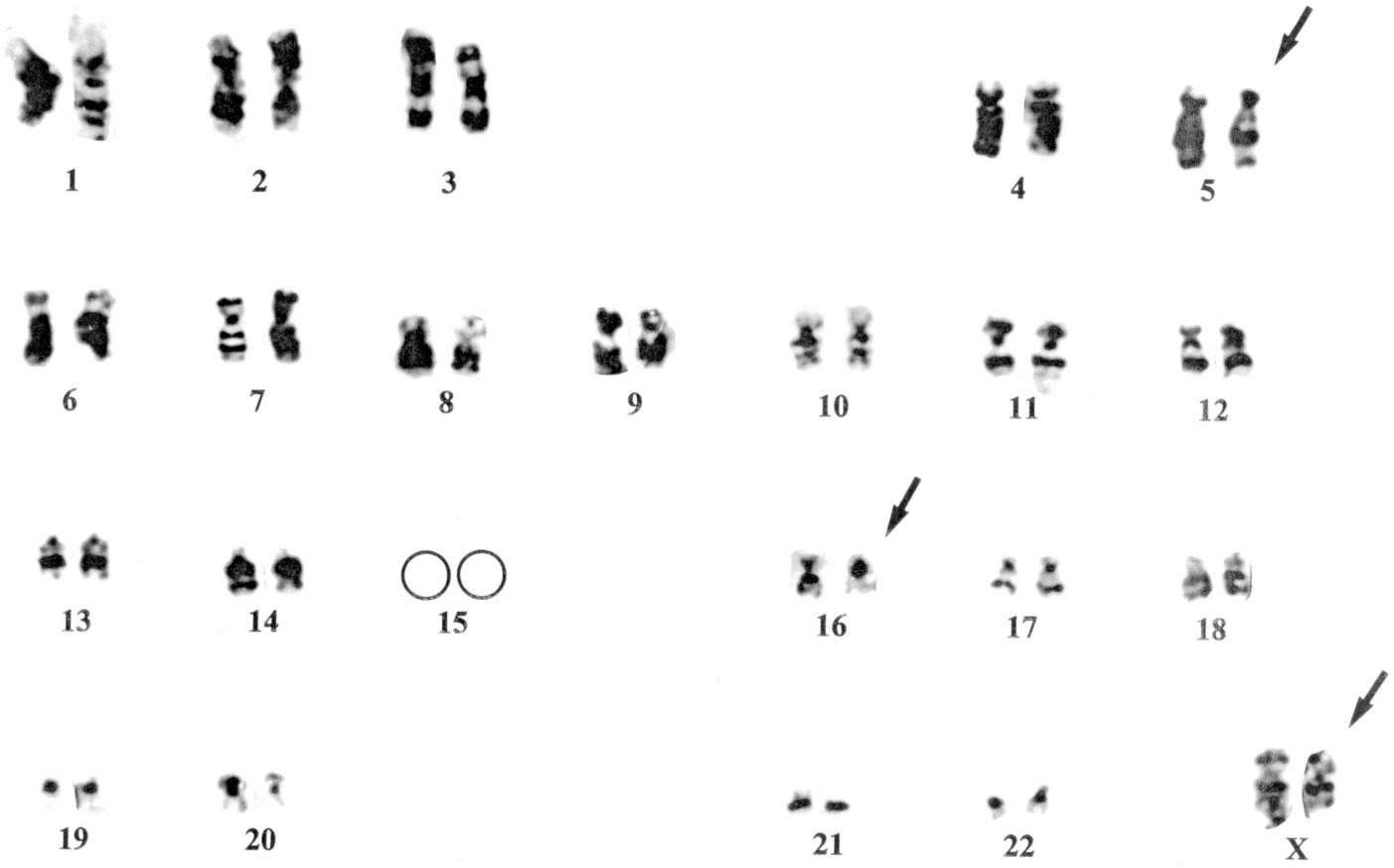


Figura 8 – Cariótipo representativo do caso 2: 44,X,**del(X)(q25),del(5)(p15)**, -15,-15,**del(16)(p11)**.

CASO 3: CISTOADENOCARCINOMA SEROSO

Foram obtidas células metafásicas em dois frascos de cultura primária (I e III), após 22 dias de cultivo "in vitro". O número modal foi igual ao hipodiplóide (35-45 cromossomos), observado em 42% das 100 células tumorais analisadas com coloração convencional, conforme tabela abaixo.

Tabela 8: Número modal por frasco e total

Número de Cromossomos	Número de células / frasco de cultura		
	I	III	Total
Poliplóide	0	05	05
>80	0	01	01
52	01	0	01
51	01	0	01
50	0	01	01
47	02	01	03
46	09	23	32
45	0	05	05
44	02	05	07
43	0	03	03
42	01	04	05
41	01	07	08
40	0	02	02
38	0	05	05
37	0	03	03
36	0	02	02

(continua)

(continuação)

35	0	02	02
34	0	02	02
33	0	03	03
32	0	03	03
31	0	03	03
30	0	03	03
Total	17	83	100

A análise cromossômica, após bandeamento GTG, foi possível em 14 metáfases. As fórmulas cariotípicas estão apresentadas a seguir:

42,XX,-2,**-15**,-20,-22

42,XX,-11,-12,**-15**,-16

42,XX,-13,-17,-18,-21

44,X,-X,-17

45,X,-X

45,XX,-6

45,XX,-10

45,XX,-14

45,XX,-19 [2]

46,XX [2]

47,XX,**+18**

47,XX,+8,**-15,+18**

Através da análise destas 14 células foi obtido o seguinte cariótipo composto:

42-47,XX,-15[3],+18[2] [cp4] / 46,XX [2]

Das 14 metáfases analisadas, duas (14,28%) eram normais e 12 (85,71%) apresentaram alterações cromossômicas, sendo que destas, duas (16,67%) apresentaram alterações clonais e 10 (83,33%) apresentaram alterações não clonais. Foram observadas 18 alterações diferentes (16 monossomias e duas trissomias), sendo que destas duas (11,11%) eram clonais: uma monossomia e uma trissomia.

As alterações cromossômicas observadas neste caso estão descritas na tabela 9 e ilustradas nas figuras 9 e 10, onde as flechas indicam as alterações clonais.

Tabela 9: Alterações cromossômicas observadas no caso 03

ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS	**NÚMERO DE CÉLULAS**	**FREQÜÊNCIA (%) (Céls.alteradas/total)**	**FRASCO DE CULTURA**
NUMÉRICAS			
Clonais			
-15	03	21,43	III
+18	02	14,28	III
Não clonais			
-X,-17, -19	02	14,28	III
-2, -6, -10, -11, -12, -13, -14, -16, -18, -20, -21, -22	01	7,14	III
+8	01	7,14	III

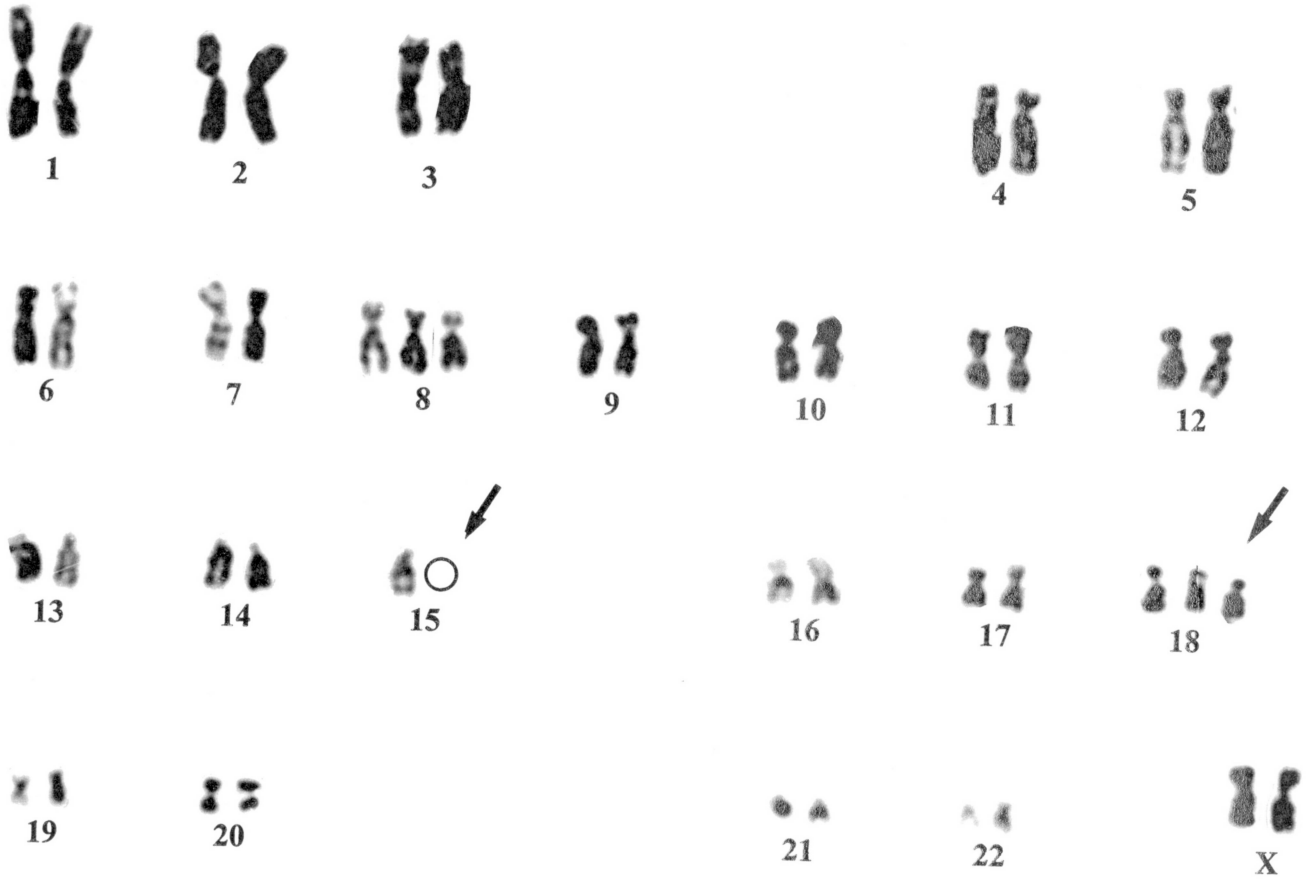


Figura 9 – Cariótipo representativo do caso 3: 47,XX,**-15,**+8,**+18.**

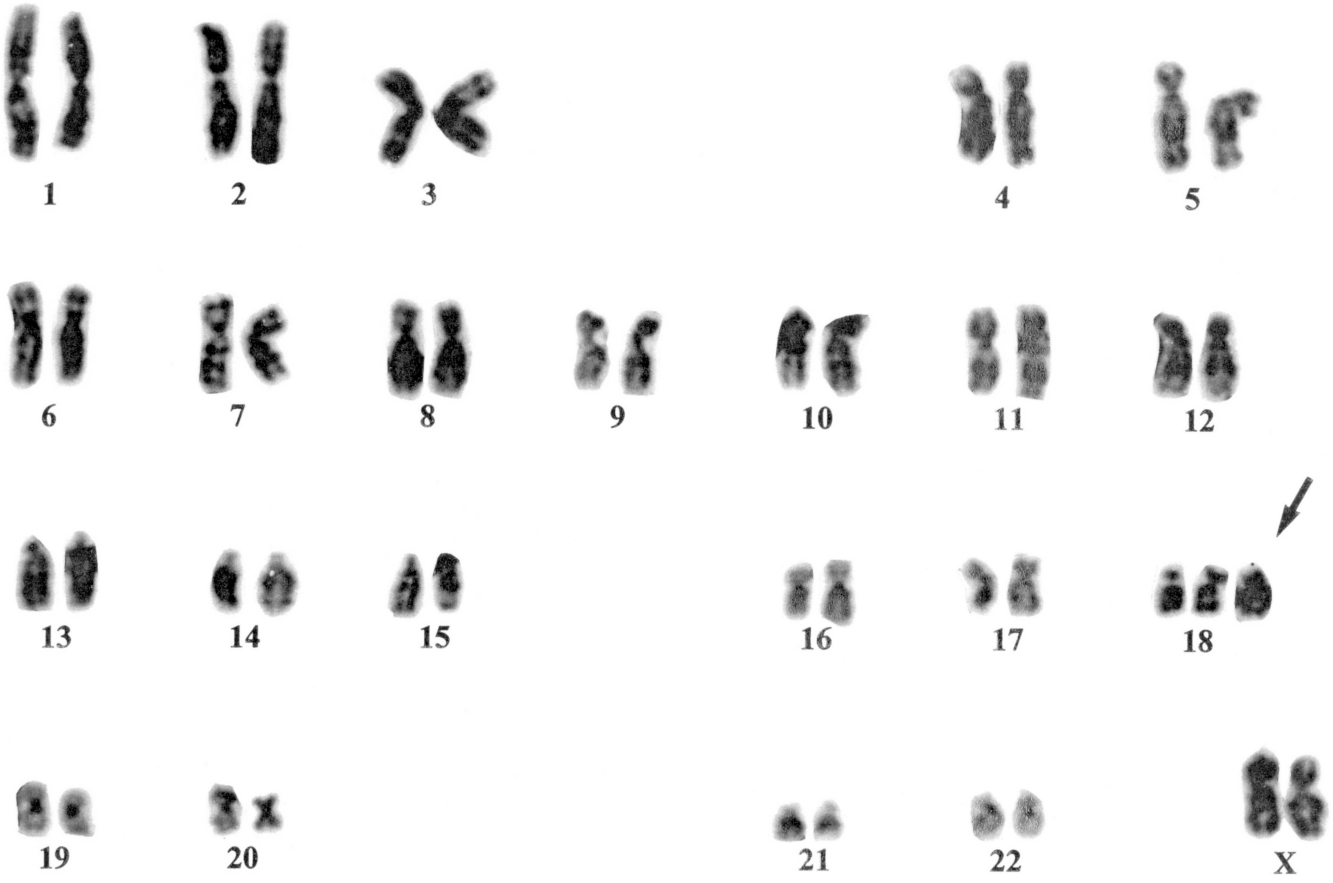


Figura 10 – Cariótipo representativo do caso 3: 47,XX,**+18.**

CASO 4: ADENOCARCINOMA SEROSO

Foram obtidas células metafásicas em um frasco de cultura primária (II), após 66 dias de cultivo "in vitro". O número modal, igual ao diplóide, foi observado em 55,55% das 27 células tumorais analisadas com coloração convencional, conforme tabela abaixo.

Tabela 10: Número modal por frasco e total

Número de Cromossomos	Número de células / frasco de cultura
	II
Poliplóide	02
52	01
47	02
46	15
45	04
44	02
40	01
Total	27

A análise cromossômica, após bandeamento GTG, foi possível em 20 metáfases. As fórmulas cariotípicas estão apresentadas a seguir:

44,XX,**-16,-18**

45,XX,-5

45,XX,**-10,-18,+20**

45,X,**del(X)(q25)**,-17

45,XX,**del(6)(q23)**,-7,**-10**,+14

46,XX [3]

46,XX,**del(6)(q23),del(17)(p11)**

46,X,**del(X)(q25),+16,-19**

46,XX,**-16**,+mar1

46,XX,**+16,-19**

46,XX, **del(6)(q23),+20**,-21

46,XX,add(8)(q24),**del(17)(p11),-18**,**+20**

47,XX,+5

47,XX,**+20** [2]

47,XX,del(2)(q33),**+18**

48,XX, -4, **del(6)(q23),-10,+20**,+21,+mar2,+mar3

57,XX,+1,+3,+4,+6,+6,-7,+8,+9,+9,+10,+11,+11,+12,+12,+13,+13,-15**,-16**,

del(17)(p11),+18,+18,+18**,-19**,-20,-20,-22

Através da análise destas 20 células foi obtido o seguinte cariótipo composto:

45~57,XX,del(X)(q25)[2],del(6)(q23)[4],-10[3],-16[3],+16[2],del(17)(p11)[3],

-18[3],+18[2],-19[3],+20[6] [cp15] / 46,XX[3]

Das 20 metáfases analisadas, três (15%) eram normais e 17 (85%) apresentaram alterações cromossômicas, sendo que destas, 15 (88,24%) apresentaram alterações clonais e duas (11,76%) apresentaram alterações não clonais. Foram observadas 37 alterações diferentes (11 monossomias, uma

nulissomia, 11 trissomias, seis tetrassomias e oito alterações estruturais), sendo que destas, dez eram clonais: quatro monossomias, três trissomias e três alterações estruturais.

As alterações cromossômicas observadas neste caso estão descritas na tabela 11 e ilustradas nas figuras 11 a 15, onde as flechas indicam as alterações clonais.

Tabela 11: Alterações cromossômicas observadas no caso 04

ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS	**NÚMERO DE CÉLULAS**	**FREQÜÊNCIA (%) (Céls.alteradas/total)**	**FRASCO DE CULTURA**
NUMÉRICAS			
Clonais			
+20	06	30	II
-10,-16,-18,-19	03	15	II
+16, +18	02	10	II
Não clonais			
-7	02	10	II
-4,-5,-15,-17,-20-20, -21,-22	01	05	II
+1,+3,+4,+5,+6+6,+8 +9+9,+10,+11+11, +12+12,+13+13,+14, +21	01	05	II
ESTRUTURAIS			
Clonais			
del(6)(q23)	04	20	II
del(17)(p11)	03	15	II
del(X)(q25)	02	10	II
Não clonais			
del(2)(q33)	01	05	II
mar1, mar2, mar3	01	05	II
add(8)(q24)	01	05	II

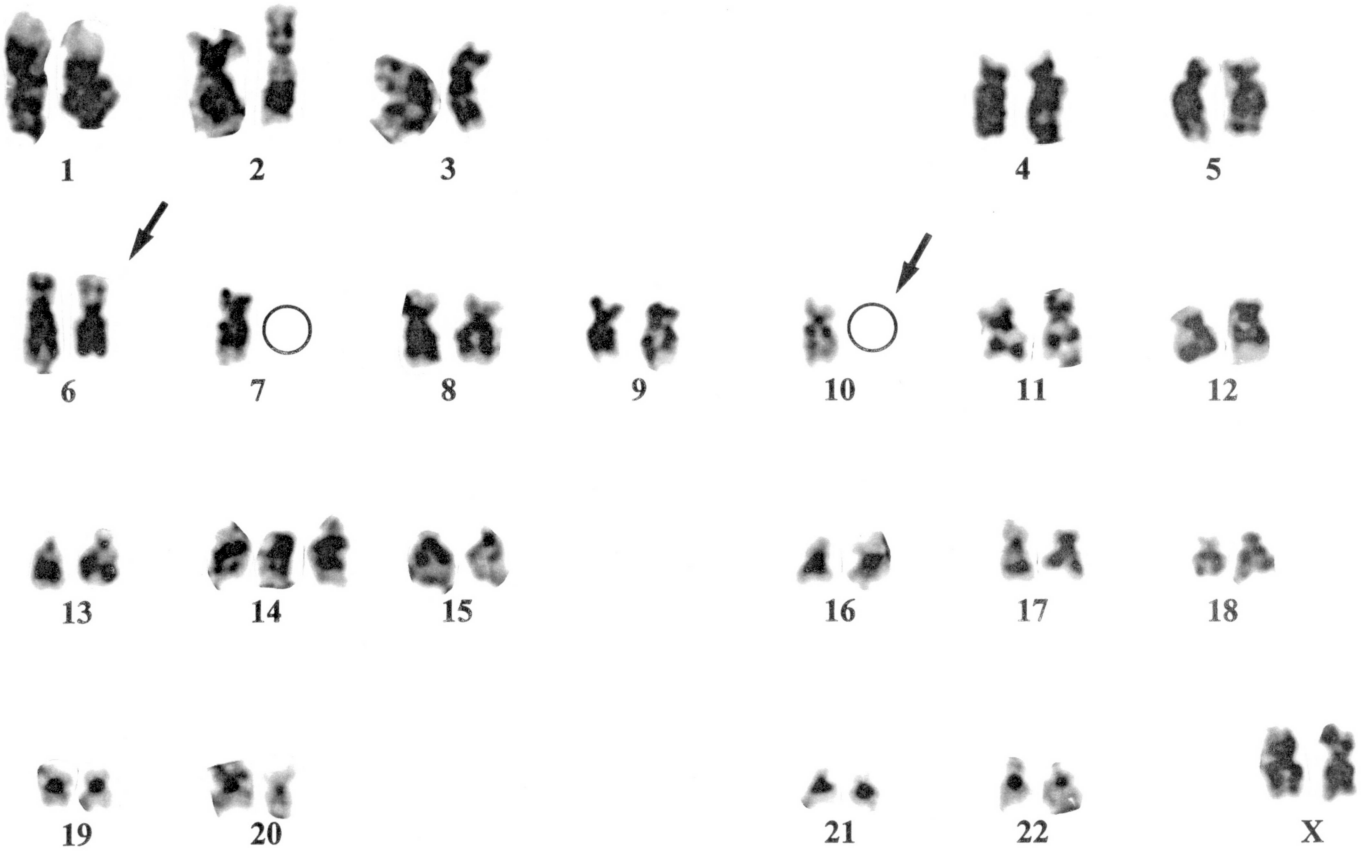


Figura 11 – Cariótipo representativo do caso 4: 45,XX,**del(6)(q23),**-7, **-10,**+14.

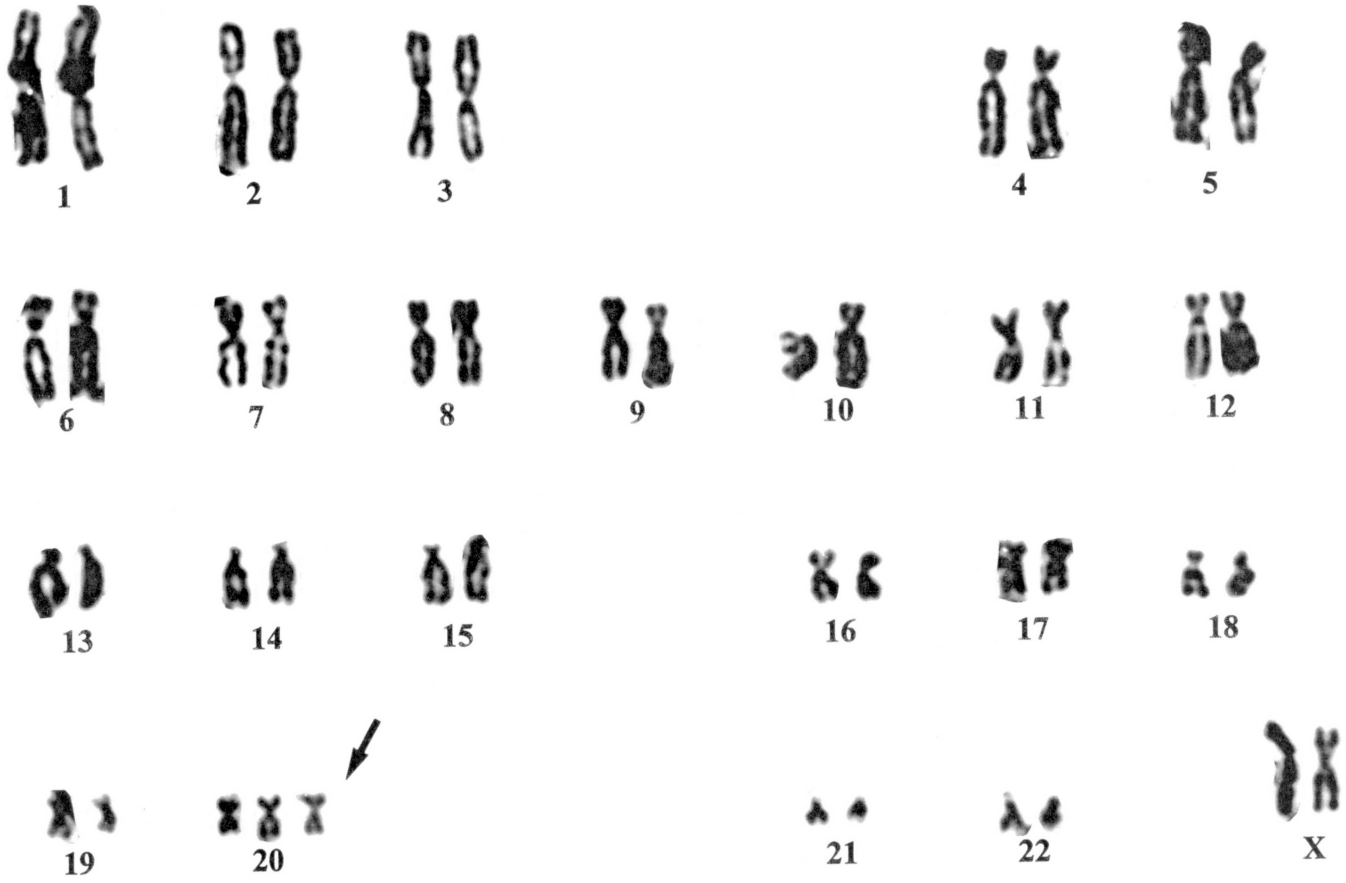


Figura 12 – Cariótipo representativo do caso 4: 47,XX,**+20.**

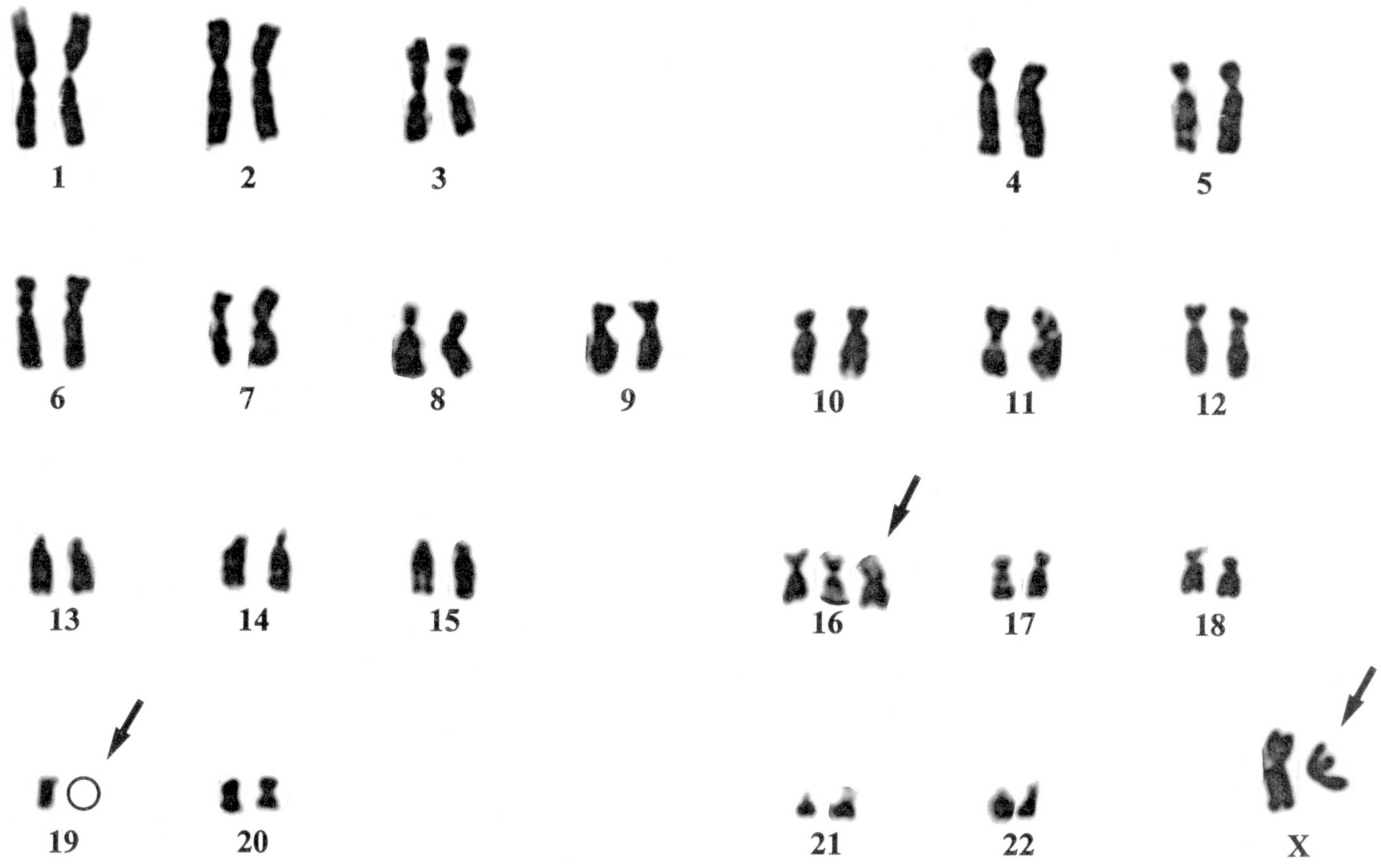


Figura 13 – Cariótipo representativo do caso 4: 46,X,**del(X)(q25),+16,-19.**

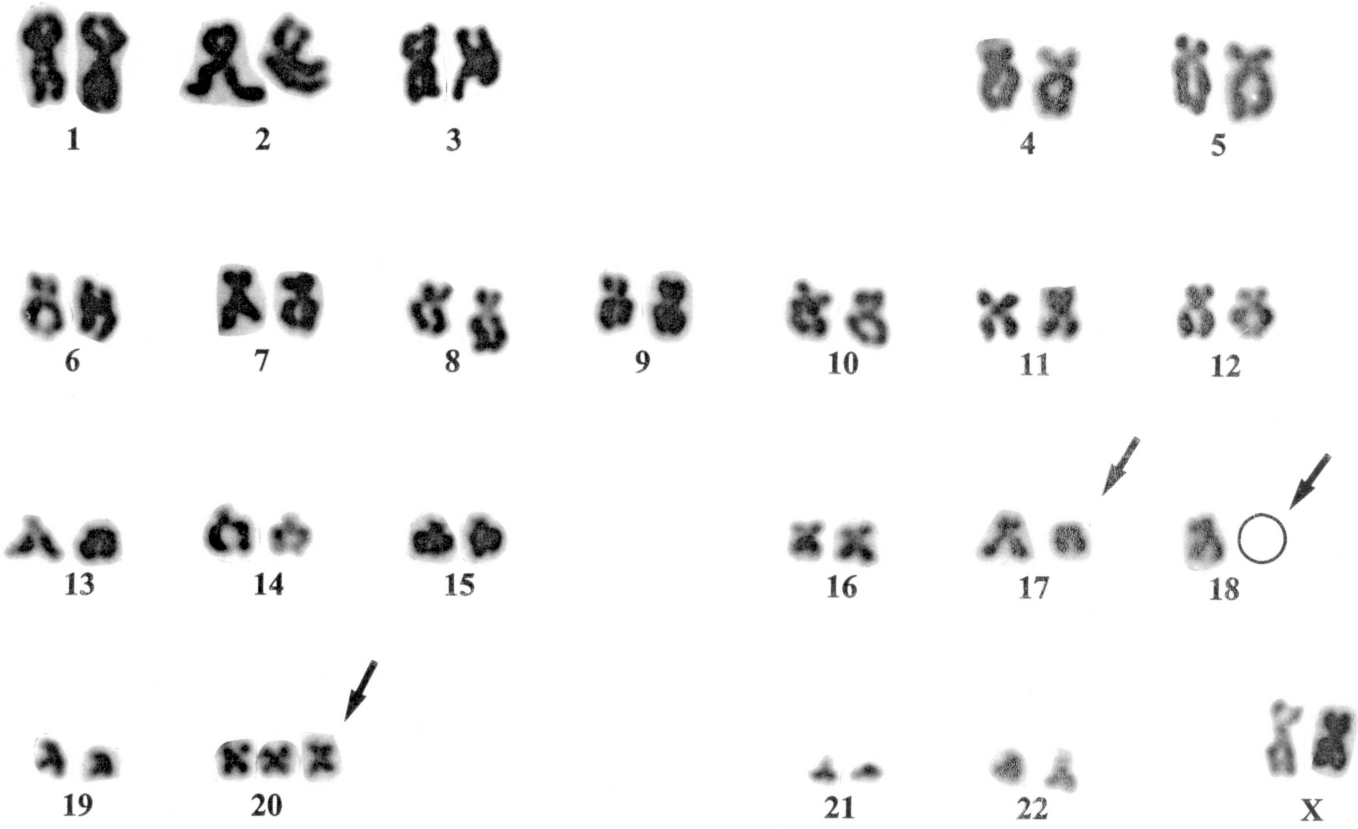


Figura 14 – Cariótipo representativo do caso 4: 46,XX,add(8)(q42), **del(17)(p11),-18,+20.**

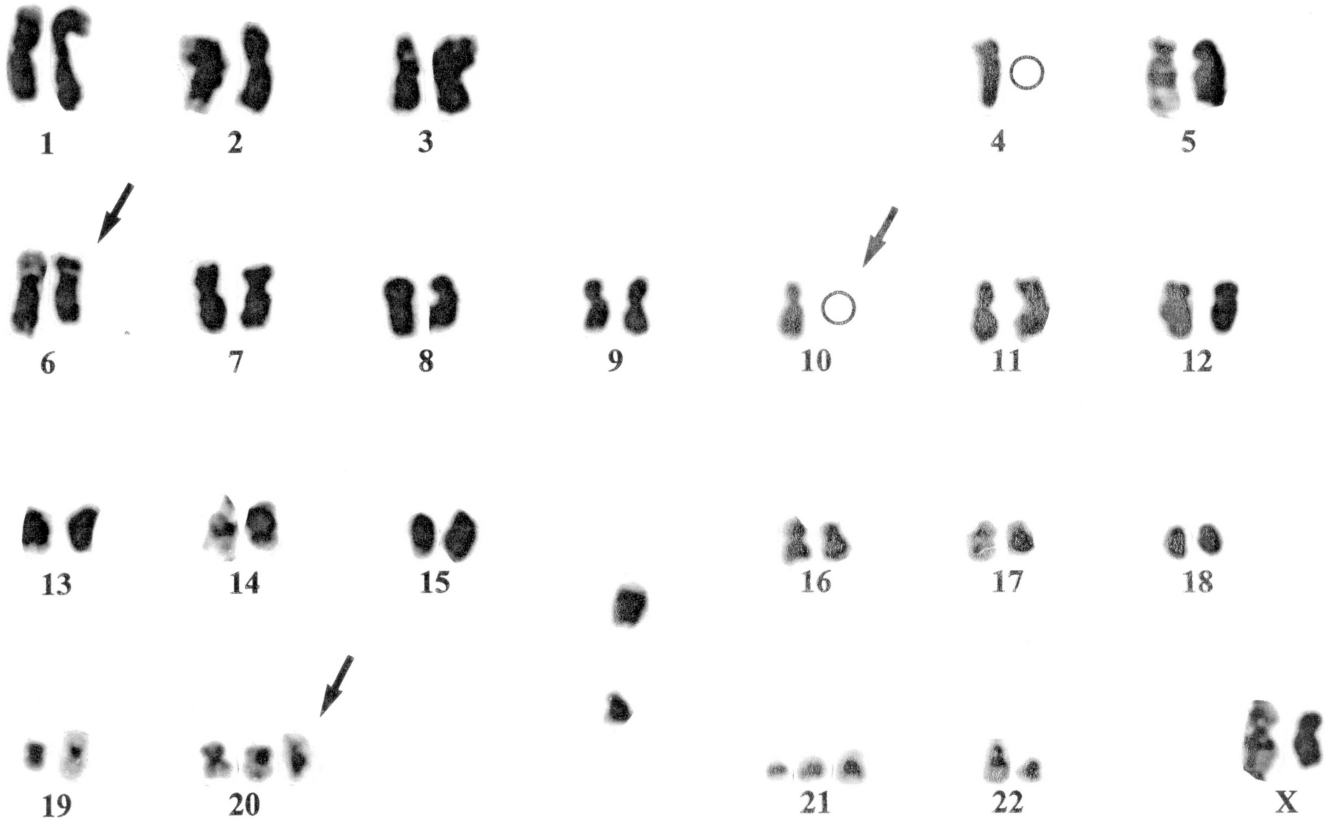


Figura 15 – Cariótipo representativo do caso 4: 48,XX,-4,**del(6)(q23),-10, +20**,+21,+mar2,+mar3.

CASO 5: CISTOADENOCARCINOMA SEROSO

Foram obtidas células metafásicas em um frasco de cultura primária (II), após 24 dias de cultivo "in vitro". O número modal foi igual ao hipodiplóide (35-45 cromossomos), observado em 72% das 25 células tumorais analisadas com coloração convencional, conforme tabela abaixo.

Tabela 12: Número modal por frasco e total

Número de Cromossomos	Número de células / frasco de cultura
	II
47	01
46	06
45	04
44	03
43	01
42	03
41	02
40	01
39	01
37	02
36	01
Total	25

A análise cromossômica, após bandeamento GTG, foi possível em 16 metáfases. As fórmulas cariotípicas estão apresentadas a seguir:

36,XX,-2,**-10**,-10,**-11,-12**,-14,-15,**-16**,**-19**,-19

37,XX,**-7,-11**,**-13**,-15,**-16,-17,-18,-22**,-22

39,XX,-6,**-8**,-9,**-10,-12**,**-13**,**-17,-18,+20**

40,X,-X,-2,**-4**,-14,**-16,-19**

41,XX,**-4,-7, -8,-17,-22**

41,X,-X,**-11,-21,-22**,-22

42,XX,-5,**-7,-12,-17**

42,XX,**-10,-17**,-17,**-19**

42,XX,**-11,-12,-16,-21**

44,XX,**-8,**-9,**-17,+20**

44,XX,**-13**,-20

45,XX,**-11**

45,XX,**+14,-16,-18**

45,XX,+X,**-4,+14,-16,-21**

46,XX

47,XX,+18

Através da análise destas 16 células foi obtido o seguinte cariótipo composto:

36~45,XX,-4[3],-7[3],-8[3],-10[3],-11[5],-12[4],-13[3],+14[2],-16[6],-17[6],-*18[3],-19[3],+20[2],-21[3],-22[3] [cp14]*

Das 16 metáfases analisadas, uma (6,25%) era normal e 15 (93,75%) apresentaram alterações cromossômicas, sendo que destas, 14 (93,33%) apresentaram alterações clonais e uma (6,67%) apresentou alteração não clonal. Foram observadas 29 alterações diferentes (quatro nulissomias, 21 monossomias e quatro trissomias), sendo que destas 15 eram clonais: 13 monossomias e duas trissomias.

As alterações cromossômicas observadas neste caso estão descritas na tabela 13 e ilustradas nas figuras 16 e 17, onde as flechas indicam as alterações clonais.

Tabela 13: Alterações cromossômicas observadas no caso 05

ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS	**NÚMERO DE CÉLULAS**	**FREQÜÊNCIA (%) (Céls.alteradas/total)**	**FRASCO DE CULTURA**
NUMÉRICAS			
Clonais			
-16,-17	06	37,5	II
-11	05	31,25	II
-12	04	25	II
-4,-7,-8,-10,-13,-18, -19,-21,-22	03	18,75	II
+14,+20	02	12,5	II
Não clonais			
-X,-2,-9,-14,-15	02	12,5	II
-5,-6,-20	01	6,25	II
+X,+18	01	6,25	II

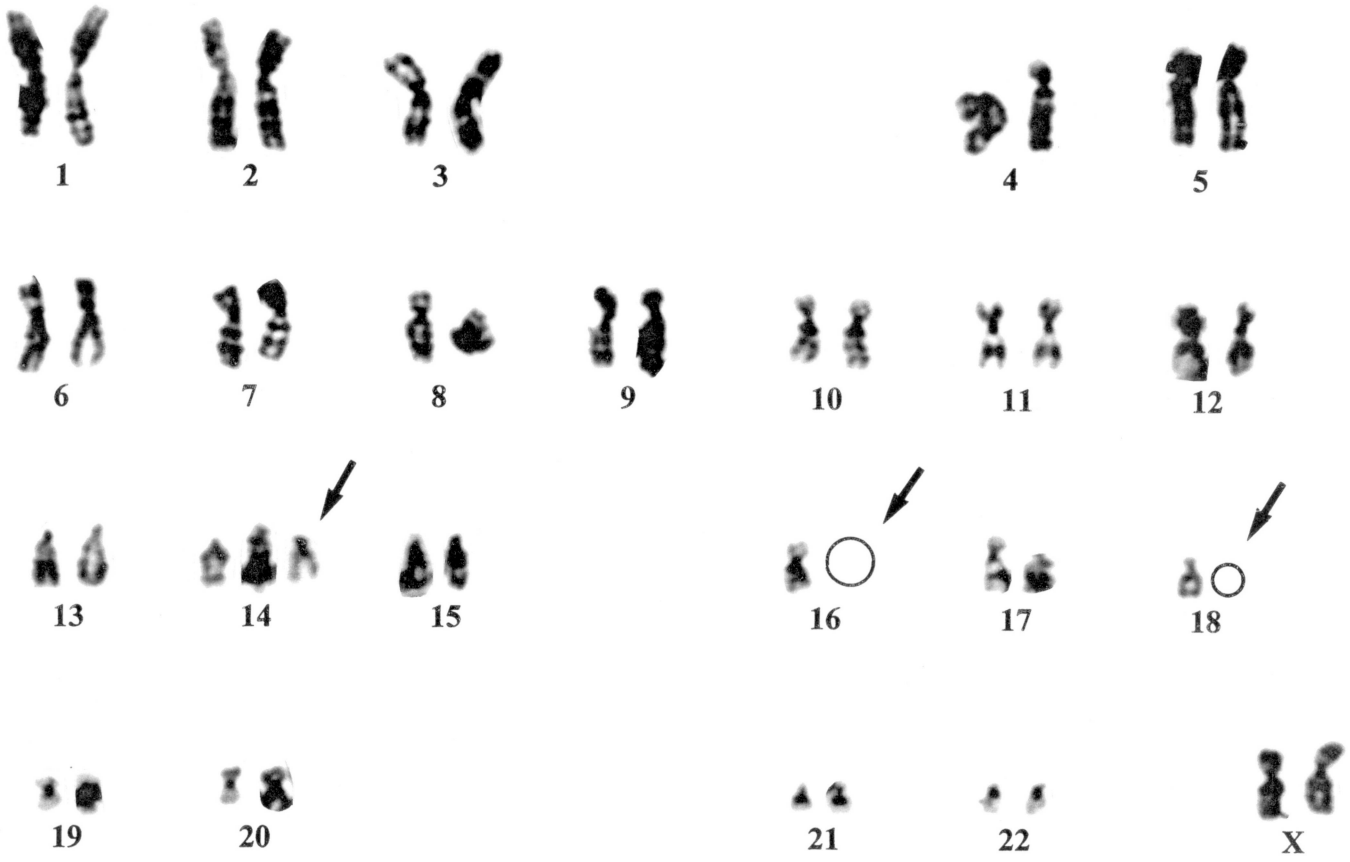


Figura 16 – Cariótipo representativo do caso 5: 45,XX,**+14,-16,-18.**

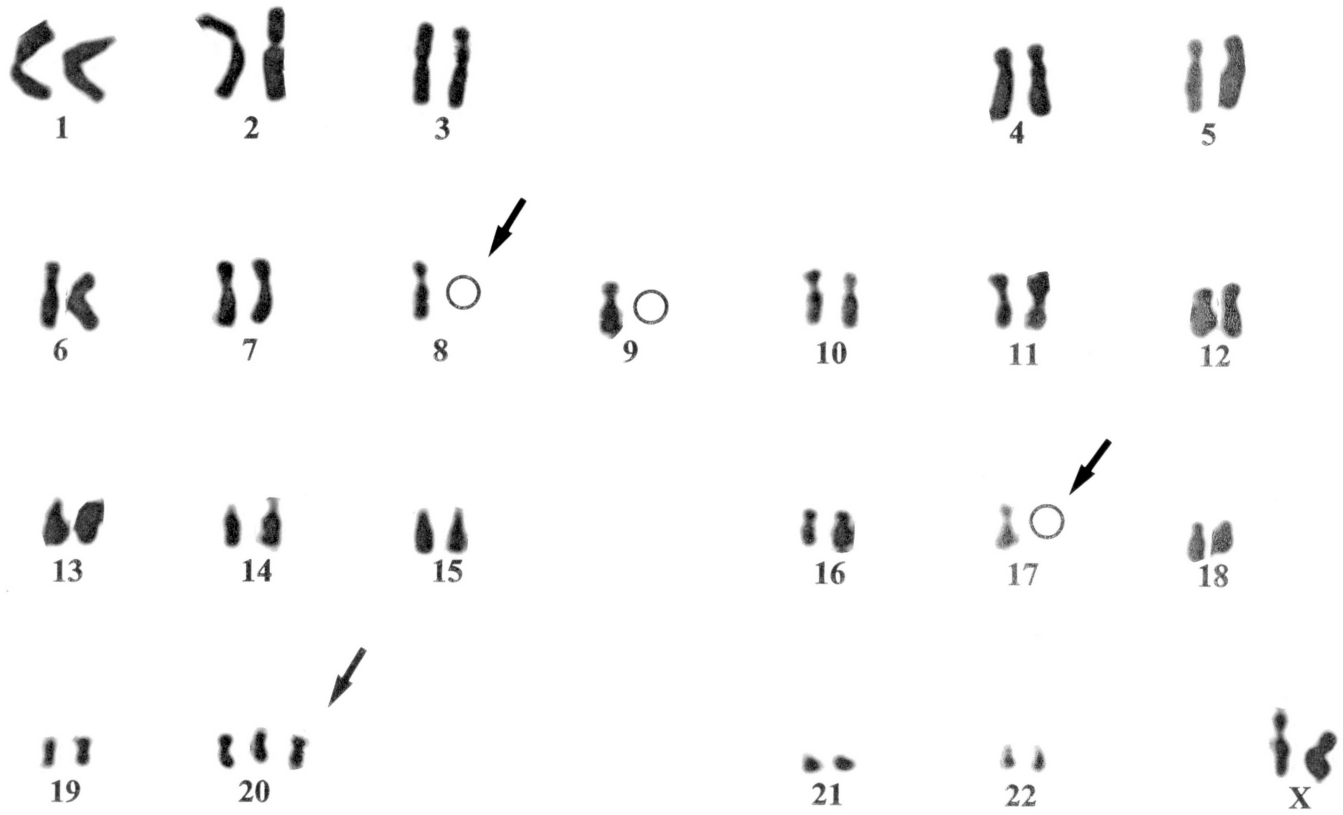


Figura 17 – Cariótipo representativo do caso 5: 44,XX,**-8**,-9,**-17,+20**.

Tabela 14: Alterações cromossômicas numéricas clonais observadas nos 4 carcinomas ovarianos:

C	CASO 1		CASO 3		CASO 4		CASO 5		TP		TG	F(%)
	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T		
4	-	-	-	-	-	-	3	-	3	-	3	2,94
7							3	-	3	-	3	2,94
8	3	-	-	-	-	-	3	-	6	-	6	5,88
10	-	-	-	-	3	-	3	-	6	-	6	5,88
11	-	-	-	-	-	-	5	-	5	-	5	4,90
12	-	-	-	-	-	-	4	-	4	-	4	3,92
13	-	2	-	-	-	-	3	-	3	2	5	4,90
14	-	3	-	-	-	-	-	2	-	5	5	4,90
15	-	-	3	-	-	-	-	-	3	-	3	2,94
16	-	-	-	-	3	2	6	-	9	2	11	10,78
17	4	-	-	-	-	-	6	-	10	-	10	9,80
18	-	3	-	2	3	3	3	-	6	8	14	13,72
19	-	-	-	-	3	-	3	-	6	-	6	5,88
20	-	-	-	-	-	6	-	2	-	8	8	7,84
21	-	-	-	-	-	-	3	-	3	-	3	2,94
22	4	-	-	-	-	-	3	-	7	-	7	6,86
X	3	-	-	-	-	-	-	-	3	-	3	2,94
TP	14	8	3	2	12	11	48	4	77	25		
TG	22		5		23		52		102			

C = cromossomo; M = monossomia; T = trissomia; TP = total parcial; TG = total geral; F = freqüência.

2. CARCINOMAS MAMÁRIOS

A análise após bandeamento GTG foi realizada em todos os casos de carcinomas mamários, sendo possível a análise em frascos de cultura independentes nos casos 1,2,3 e 5. A freqüência de células normais nestes casos variou de 0 a 54,76%.

Todos os casos de carcinomas mamários estudados apresentaram após a contagem de 100 células (casos 2,3,4 e 5) e 73 células (caso 1) um número modal de 46 cromossomos para os casos 2,4,5; o caso 1 foi hipodiplóide e o caso 3, próximo ao tetraplóide.

O resumo dos dados de cada caso estão apresentados na tabela abaixo.

Tabela 15: Tipo histológico, número de dias em cultura, número modal e número de células analisadas após o bandeamento G, dos 5 carcinomas mamários

CASO N°.	**TIPO HISTOLÓGICO**	**N°. DIAS "IN VITRO"**	**N°. MODAL**	**N°. DE CÉLS. EM BANDA G**
1	Ca.ductal invasor	25 48	Hipodiplóide	41
2	Ca. lobular invasor	70 83	46	41
3	Ca. ductal	14 53	Próximo ao Tetraplóide	42
4	Ca. ductal invasor	27	46	43
5	Ca. ductal invasor	18 43	46	42

CASO 1: CARCINOMA DUCTAL INVASOR

Foram obtidas células metafásicas em dois frascos de culturas primárias (II e III), após 25 e 48 dias de cultivo "in vitro". O número modal foi igual ao hipodiplóide (35-45 cromossomos), observado em 45,2% das 73 células tumorais analisadas, após coloração convencional, conforme tabela abaixo.

Tabela 16: Número modal por frasco e total

Número de Cromossomos	Número de células / frasco de cultura		
	II	III	Total
47	01	08	09
46	14	17	31
45	07	11	18
44	02	06	08
43	03	0	03
42	02	01	03
39	01	0	01
Total	30	43	73

A análise cromossômica, após bandeamento GTG, foi possível em 41 metáfases. As fórmulas cariotípicas estão apresentadas a seguir:

38,XX,-7,**-9**,-13,**-14, der(14;21)(q10;q10)**,-15,**-16**,-17

41,XX,**-9**,-9,**-11**,**der(14;21)(q10;q10)**,-20

41,XX,**-9**,-10,**-11**,**der(14;21)(q10;q10)**,-18

43,XX,-8,**-9, *der(14;21)(q10;q10)***

44,X,-X,**-22**

44,XX,-4,**-22**

45,XX,**del(6)(q23)**,**-22**

45,XX,**+del(6)(q21)**,-19,**-22**

44,XX,**-9, der(14;21)(q10;q10)** [04]

44,XX,**der(14;21)(q10;q10),-16**

44,XX,**der(14;21)(q10;q10),**-17

44,XX,**+del(6)(q21),-9,der(14;21)(q10;q10),-21** [02]

45,XX,**der(14;21)(q10;q10)** [07]

45,XX,**del(6)(q23),der(14;21)(q10;q10)**

45,XX,-10,+12,**der(14;21)(q10;q10)**

45,XX,-3,-3,**+del(6)(q21),der(14;21)(q10;q10),+mar1**

45,XX,**-9,+del(6)(q21),der(14;21)(q10;q10)** [04]

45,XX,-2,+hsr(8)(q22),**der(14;21)(q10;q10)**

45,XX,**+del(6)(q21),-14**,**-16**

46,XX,**+del(6)(q21),der(14;21)(q10;q10)** [07]

47,XX,**+del(6)(q21)**

85,XXX,-X,+1,-2,-4,-6,**+del(6)(q21)**,+7,-8,-8,**-11**,-11,+13,**-14**,-14,+15,**-16**,-16,

+20,**-21**,**-22**,**+mar1**

Através da análise destas 41 células foi obtido o seguinte cariótipo composto:

39~85,XX,del(6)(q23)[2],+del(6)(q21)[18],-9[14],-11[3],-14[3],der(14;21)(q10;q10)[34],-16[4],-21[3],-22[5],+mar1[2][cp41]

Nas 41 metáfases analisadas, foram observadas aberrações cromossômicas que constituíram clones. Foram observadas 36 alterações diferentes (seis nulissomias, 19 monossomias, seis trissomias e cinco alterações estruturais), sendo que dez destas fizeram clones: seis monossomias e quatro alterações estruturais.

As alterações cromossômicas observadas neste caso estão descritas na tabela 17 e ilustradas nas figuras 18 a 20, onde as flechas indicam as alterações clonais.

Tabela 17: Alterações cromossômicas observadas no caso 01

ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS	**NÚMERO DE CÉLULAS**	**FREQÜÊNCIA (%) (céls.alteradas/total)**	**FRASCO DE CULTURA**
NUMÉRICAS			
Clonais			
-9	14	34,15	II, III
-22	05	12,19	III
-16	04	9,76	III
-11, -21	03	7,32	II, III
-14	03	7,32	III
Não clonais			
-2, -10, -17	02	4,88	II,III
-X,-4	02	4,88	III
-6,-7,-15,-8,-8,-13	01	2,44	III
-8,-18,-19,-20	01	2,44	II
-3,-3	01	2,44	II,III
+1,+7,+12,+13, +15,+20	01	2,44	III
ESTRUTURAIS			
Clonais			
der(14;21)(q10;q10)	34	82,93	II,III
+del(6)(q21)	18	43,90	II,III
del(6)(q23)	02	4,88	II,III
mar1	02	4,88	II, III
Não clonais			
hsr(8)(q22)	01	2,44	II

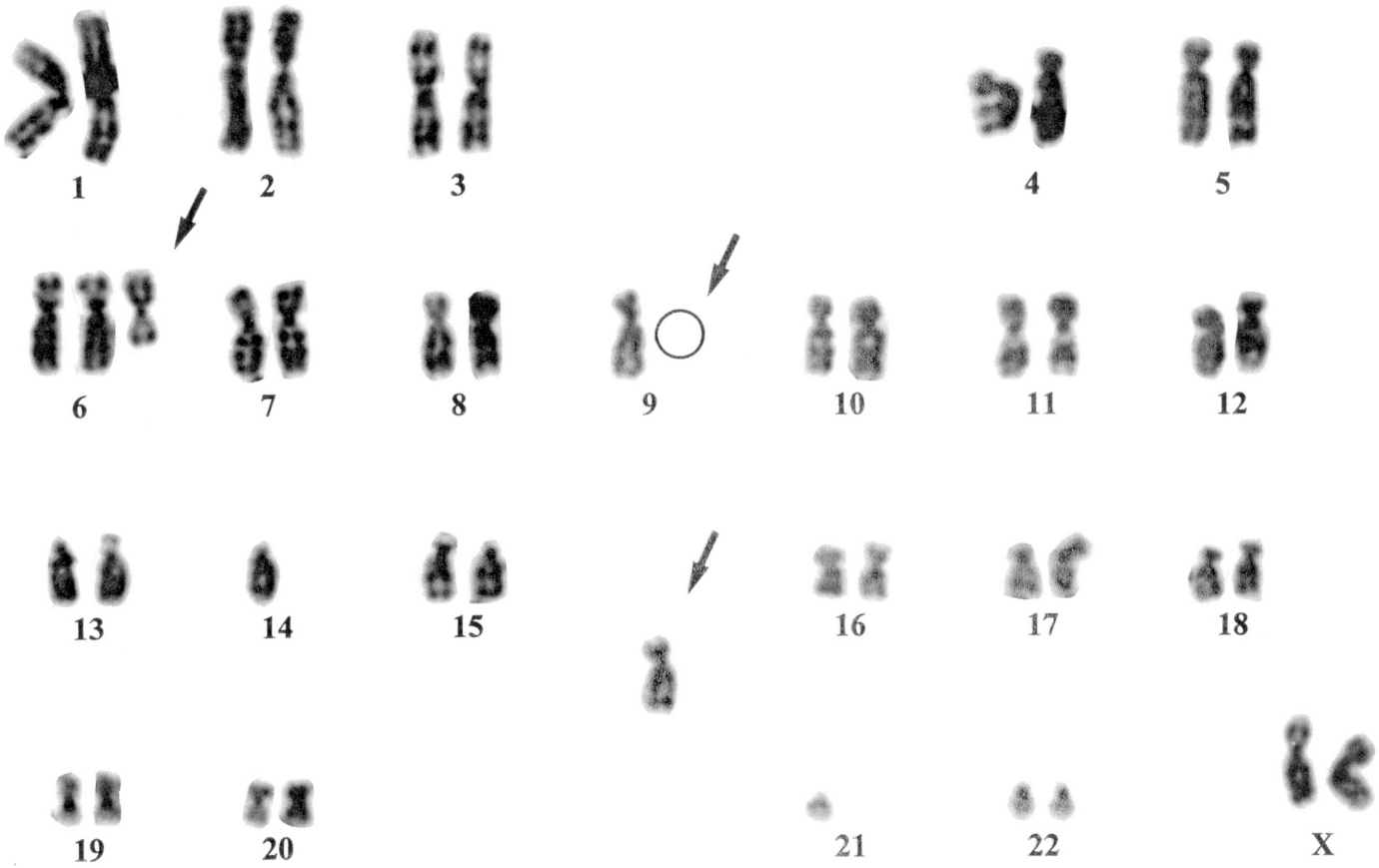


Figura 18 – Cariótipo representativo do caso 1: 45,XX,**-9,+del(6)(q21),der(14;21)(q10;q10).**

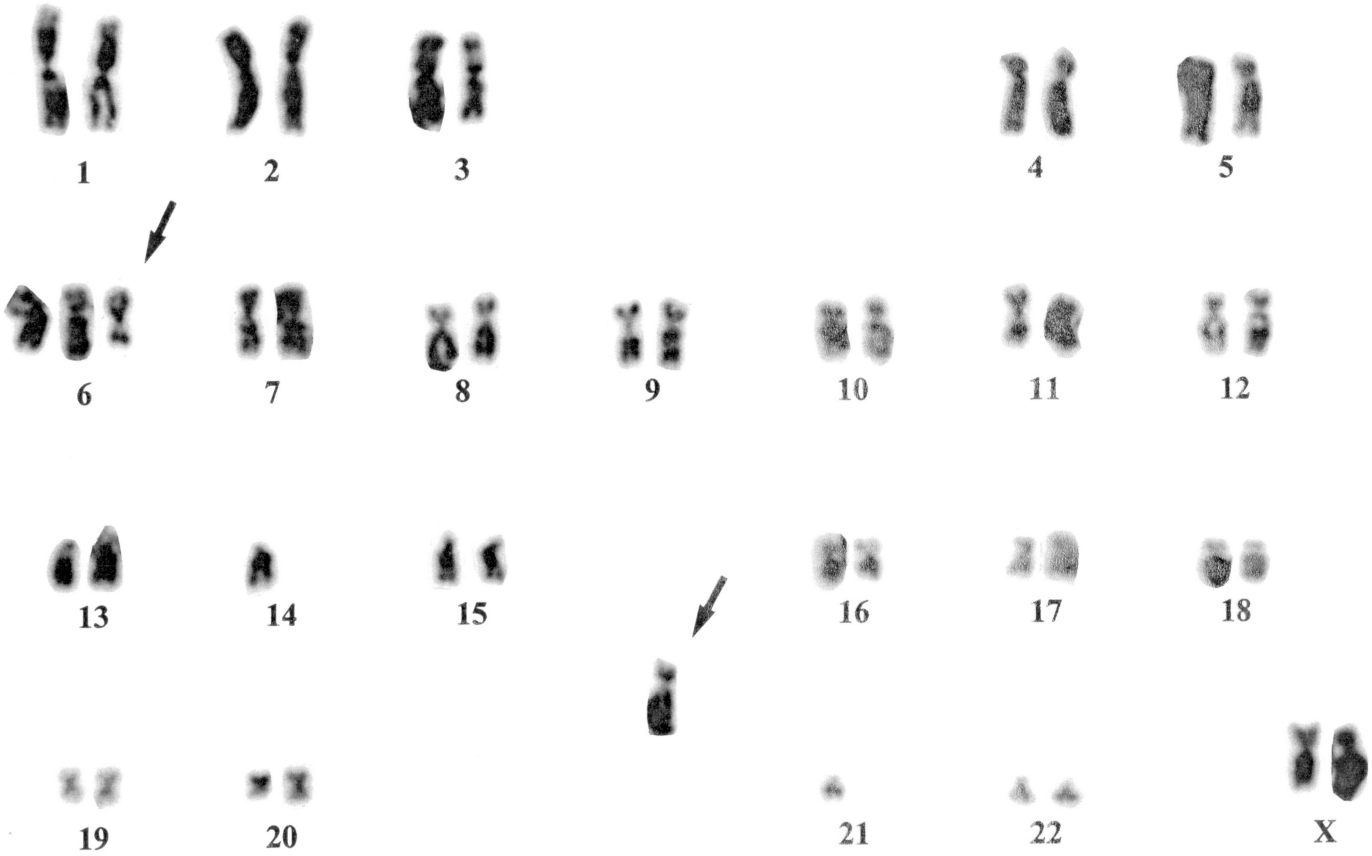


Figura 19 – Cariótipo representativo do caso 1: 46,XX,**+del(6)(q21),der(14;21)(q10;q10)**.

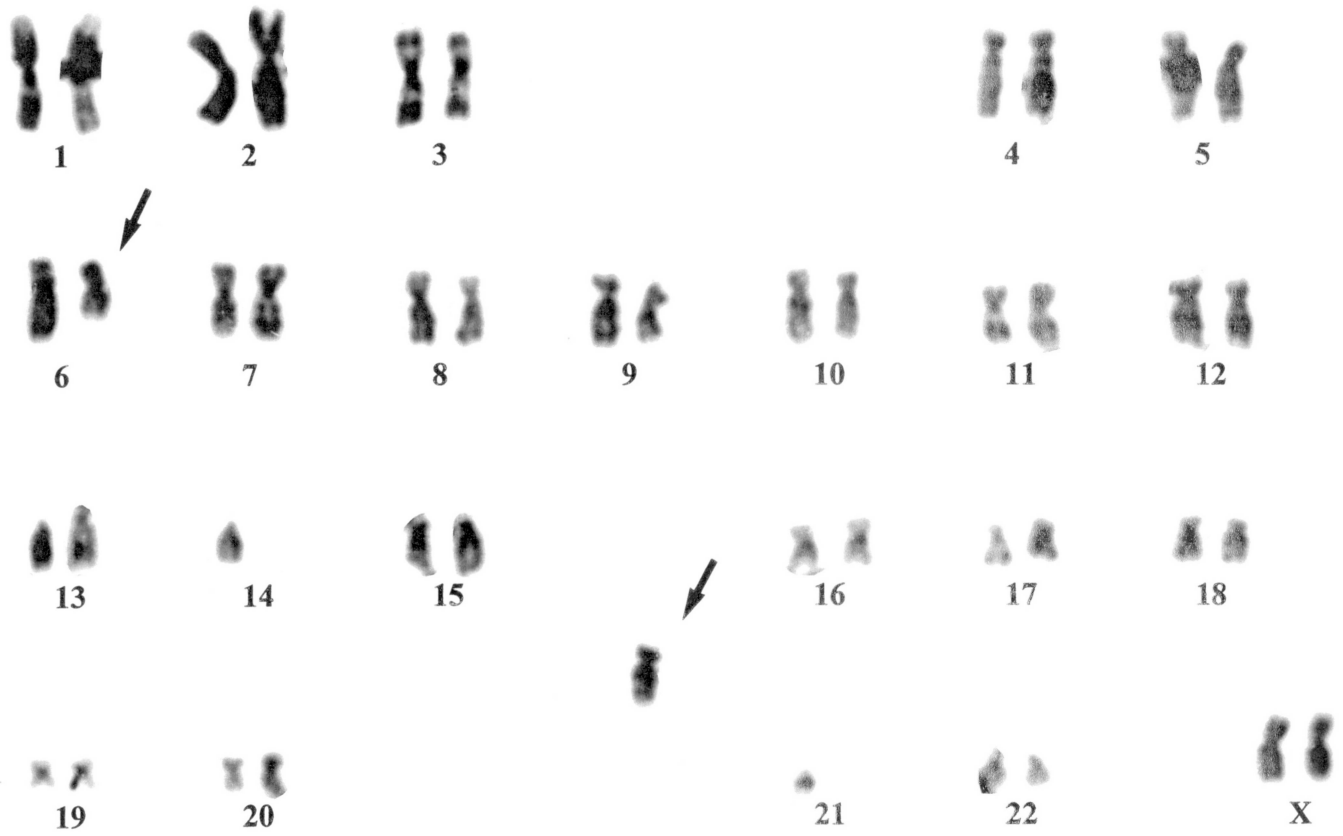


Figura 20 – Cariótipo representativo do caso 1: 45,XX,**del(6)(q23),der(14;21)(q10;q10).**

CASO 2: CARCINOMA LOBULAR INVASOR

Foram obtidas células metafásicas em dois frascos de culturas primárias (II e III), após 70 e 83 dias de cultivo "in vitro". O número modal, igual a 46, foi observado em 56% das 100 células tumorais analisadas após coloração convencional, conforme tabela abaixo.

Tabela 18: Número modal por frasco e total

Número de Cromossomos	Número de células / frasco de cultura		
	II	III	Total
Poliplóide	07	02	09
47	01	03	04
46	41	15	56
45	07	02	09
44	05	04	09
43	02	0	02
42	02	02	04
41	02	0	02
40	01	0	01
38	01	0	01
37	01	01	02
35	01	0	01
Total	71	29	100

A análise cromossômica, após bandeamento GTG, foi possível em 41 metáfases. As fórmulas cariotípicas estão apresentadas a seguir:

37,X,**-X**,-7,-7,-8,-8,-10,-15,**-17,+18**,-20,-22

41,X,**-X**,**-2,-6**,-7**,-9**

42,XX,**-6,-9**,**-17**,-20

43,X,**-X,-11,-17**

43,XX,-5**,-9**,-22

43,XX,-1,**-2,+4,-11**,-12,**+18,**-21

44,XX,**-2,-19**

44,XX,-5,**-19**

44,XX,**-6**,-13

44,XX,**-9**,-9

44,XX,**-9**,-13

44,XX,**-9**,-15

45,X,**-X**

45,XX,**-9** [4]

45,XX,-16

45,XX,-21

45,XX,del(11)(q23),del(12)(p12),**-19**

45,XX**,-9**,**-11,+mar1**

46,XX [13]

46,XX,-4,**+6**

46,XX,**+6,-9**

*46,XX,**-17,+18** [2]*

46,XX,**-6,**+mar2

47,XX,**+4**

47,XX,**+mar1**

Através da análise destas 41 células foi obtido o seguinte cariótipo composto:

37-47,XX,-X [4],-2 [3],+4 [2],-6 [4],+6[2],-9 [12],-11 [3],-17 [5],+18 [4],-19 [3], +mar1[2] [cp26] / 46,XX [13]

Das 41 metáfases analisadas, 13 (31,71%) eram normais e 28 (68,29%) apresentaram alterações cromossômicas, sendo que destas, 26 (92,86%) apresentaram alterações clonais e duas (7,14%) apresentaram alterações não clonais. Foram observadas 29 alterações diferentes (três nulissomias, 19 monossomias, três trissomias e quatro alterações estruturais), sendo que 11 destas fizeram clones: sete monossomias, três trissomias e uma alteração estrutural.

As alterações cromossômicas observadas neste caso estão descritas na tabela 19 e ilustradas nas figuras 21 a 23, onde as flechas indicam as alterações clonais.

Tabela 19: Alterações cromossômicas observadas no caso 02

ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS	**NÚMERO DE CÉLULAS**	**FREQÜÊNCIA (%) (céls.alteradas/total)**	**FRASCO DE CULTURA**
NUMÉRICAS			
Clonais			
-9	12	29,27	II, III
-17	05	12,19	II, III
-X, -6	04	9,76	II, III
+18	04	9,76	II, III
-2	03	7,32	II
-11, -19	03	7,32	II, III
+4	02	4,88	II, III
+6	02	4,88	III
Não clonais			
-5, -13, -15, -22	02	4,88	II
-20, -21	02	4,88	II, III
-1, -7-7, -8-8,-10, -12	01	2,44	II
-4, -16	01	2,44	III
ESTRUTURAIS			
Clonais			
+mar1	02	4,88	II, III
Não clonais			
del(11)(q23)	01	2,44	III
del(12)(p12)	01	2,44	III
+mar2	01	2,44	III

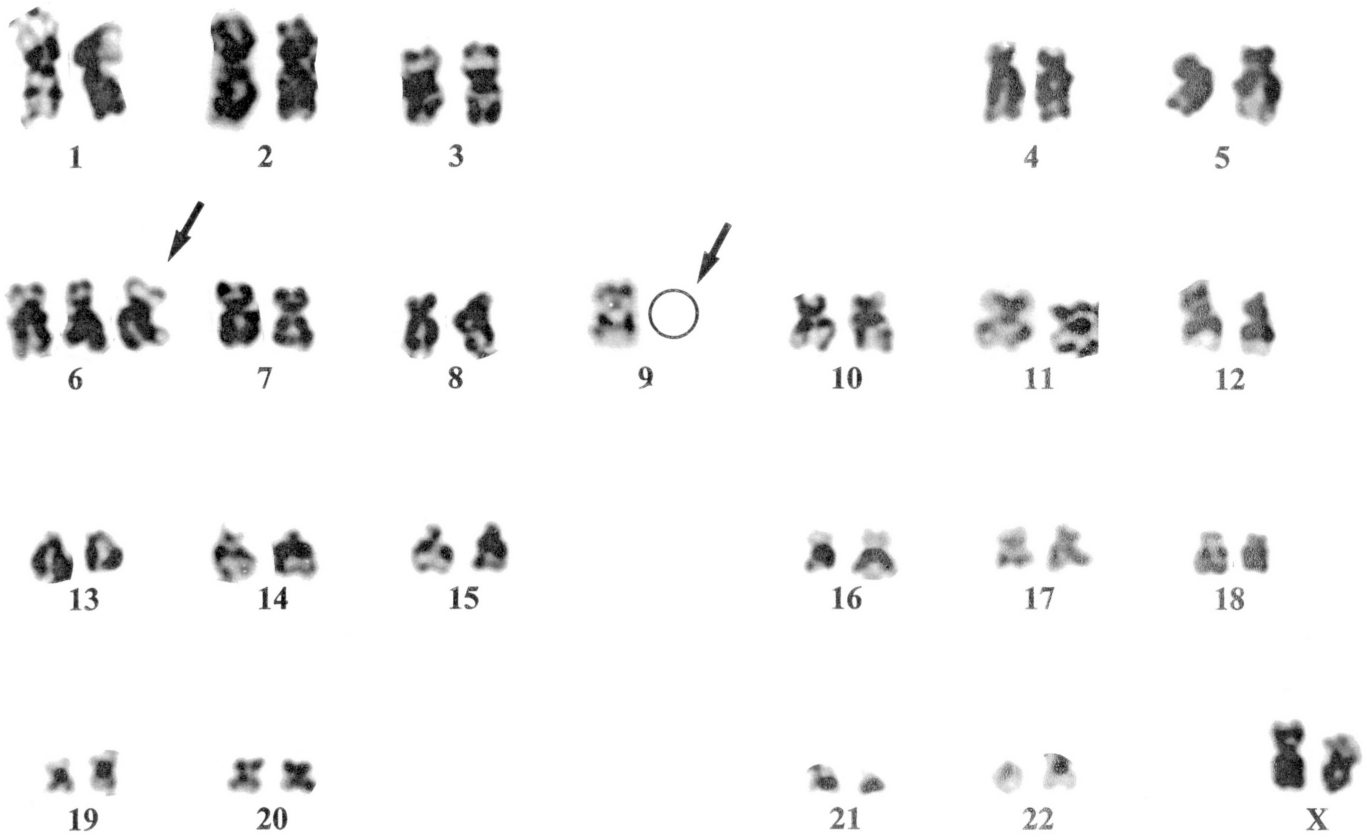


Figura 21 – Cariótipo representativo do caso 2: 46,XX,**+6,-9**.

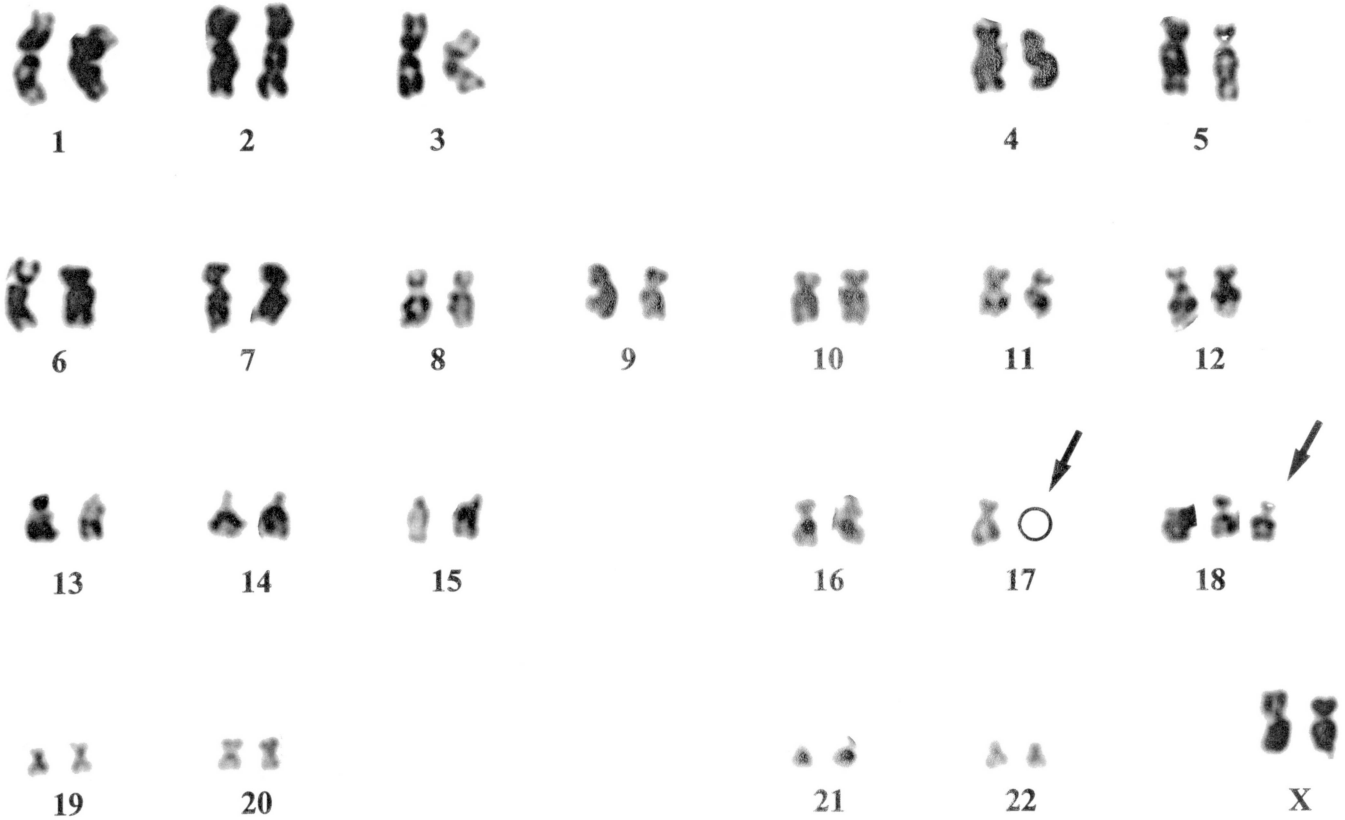


Figura 22 – Cariótipo representativo do caso 2: 46,XX,**-17,+18.**

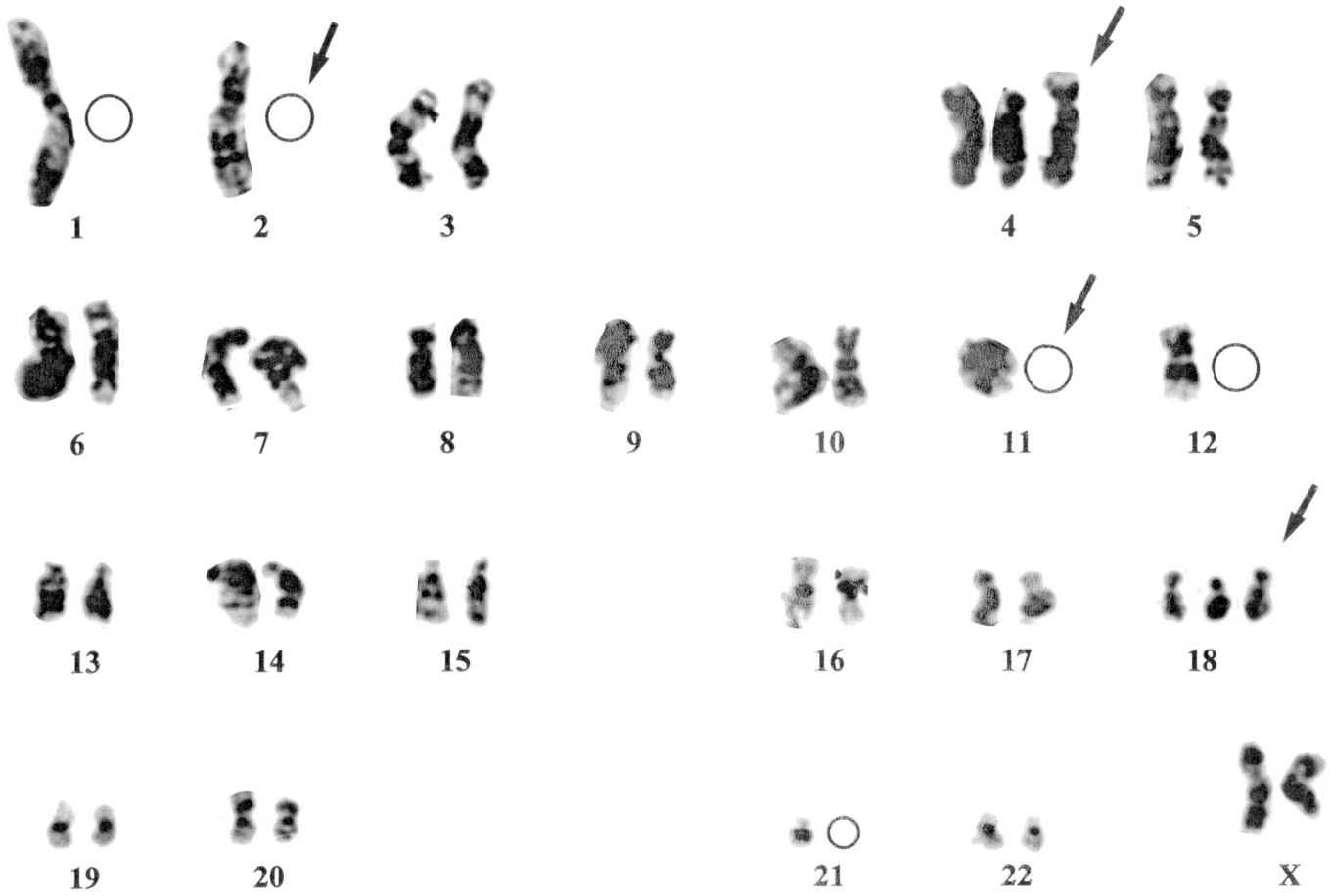


Figura 23 – Cariótipo representativo do caso 2: 43,XX,-1,**-2,+4,-11,**-12,**+18,**-21.

CASO 3: CARCINOMA DUCTAL

Foram obtidas células metafásicas em dois frascos de culturas primárias (II e III), após 14 e 53 dias de cultivo "in vitro". O número modal foi igual ao tetraplóide (81-103 cromossomos), observado em 56% das 100 células tumorais analisadas após coloração convencional, conforme tabela abaixo.

Tabela 20: Número modal por frasco e total

Número de Cromossomos	Número de células / frasco de cultura		
	III	IV	Total
>130	01	0	01
>103	0	01	01
>80	22	34	56
46	10	25	35
44	01	02	03
43	0	02	02
42	01	0	01
40	0	01	01
Total	35	65	100

A análise cromossômica, após bandeamento GTG, foi possível em 42 metáfases. As fórmulas cariotípicas estão apresentadas a seguir:

39,XX,-5,-10,-13,**-14,-16,-17,-19**

42,XX,-6,-7,**-16,-17**

44,X,-X,-13

44,XX,-11,**-21**

44,XX, **del(1)(p32),-14,-16**

44,XX,**-19**,-20

44,XX, del(12)(p12),**-19,-21**

44,XX, +**10,-14,-17**,-22

45,XX,-9

45,XX, **,+5,**-15,**-21**

46,XX [24]

46,XX,**del(11)(q23)** [2]

46,XX, **del(1)(p32),+5**,-6,**+18**,-22

46,XX,-4,**+10** [2]

46,XX,**-16,+18**

46,XX,**-19**,+21

46,XX,**+18,**-20

Através da análise destas 42 células foi obtido o seguinte cariótipo:

39-46,XX,del(1)(p32) [2],+5 [2],+10 [3],-14[3],-16[4],-17 [3],+18 [3],-19 [4],-21[3] [cp14] / 46,XX,del(11)(q23) [2] / 46,XX [24]

Das 42 metáfases analisadas, 24 (57,14%) eram normais e 18 (42,86%) apresentaram alterações cromossômicas, sendo que destas, 16 (88,89%) apresentaram alterações clonais e duas (11,11%) apresentaram alterações não clonais. Foram observadas 24 alterações diferentes (17 monossomias, quatro

trissomias e três alterações estruturais), sendo que destas, dez fizeram clone: cinco monossomias, três trissomias e duas alterações estruturais.

As alterações cromossômicas observadas neste caso estão descritas na tabela 21 e ilustradas nas figuras 24 a 26, onde as flechas indicam as alterações clonais.

Tabela 21: Alterações cromossômicas observadas no caso 03

ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS	**NÚMERO DE CÉLULAS**	**FREQÜÊNCIA (%) (céls.alteradas/total)**	**FRASCO DE CULTURA**
NUMÉRICAS			
Clonais			
-16, -19	4	9,52	III, IV
-14, -17, -21	3	7,14	III, IV
+10, +18	3	7,14	III, IV
+5	2	4,76	III, IV
Não clonais			
-4, -6	02	4,76	III
-13, -20, -22	02	4,76	III, IV
-5, -7, -9, -10, -11	01	2,38	III
-X, -15	01	2,38	IV
+21	01	2,38	IV
ESTRUTURAIS			
Clonais			
del(1)(p32)	02	4,76	III, IV
del(11)(q23)	02	4,76	III, IV
Não clonais			
del(12)(p12)	01	2,38	III

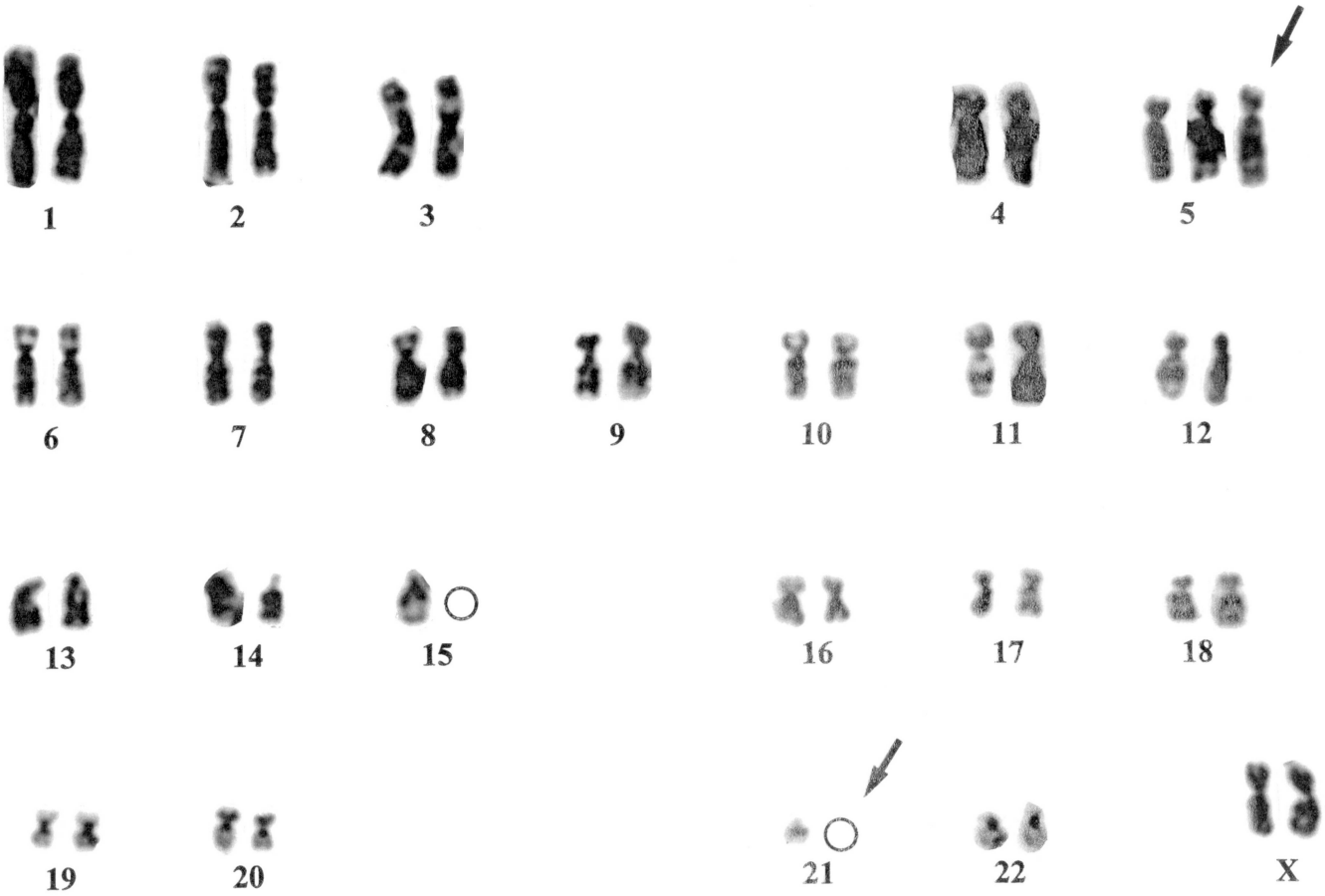


Figura 24 – Cariótipo representativo do caso 3: 45,XX,**+5**,-15,**-21**.

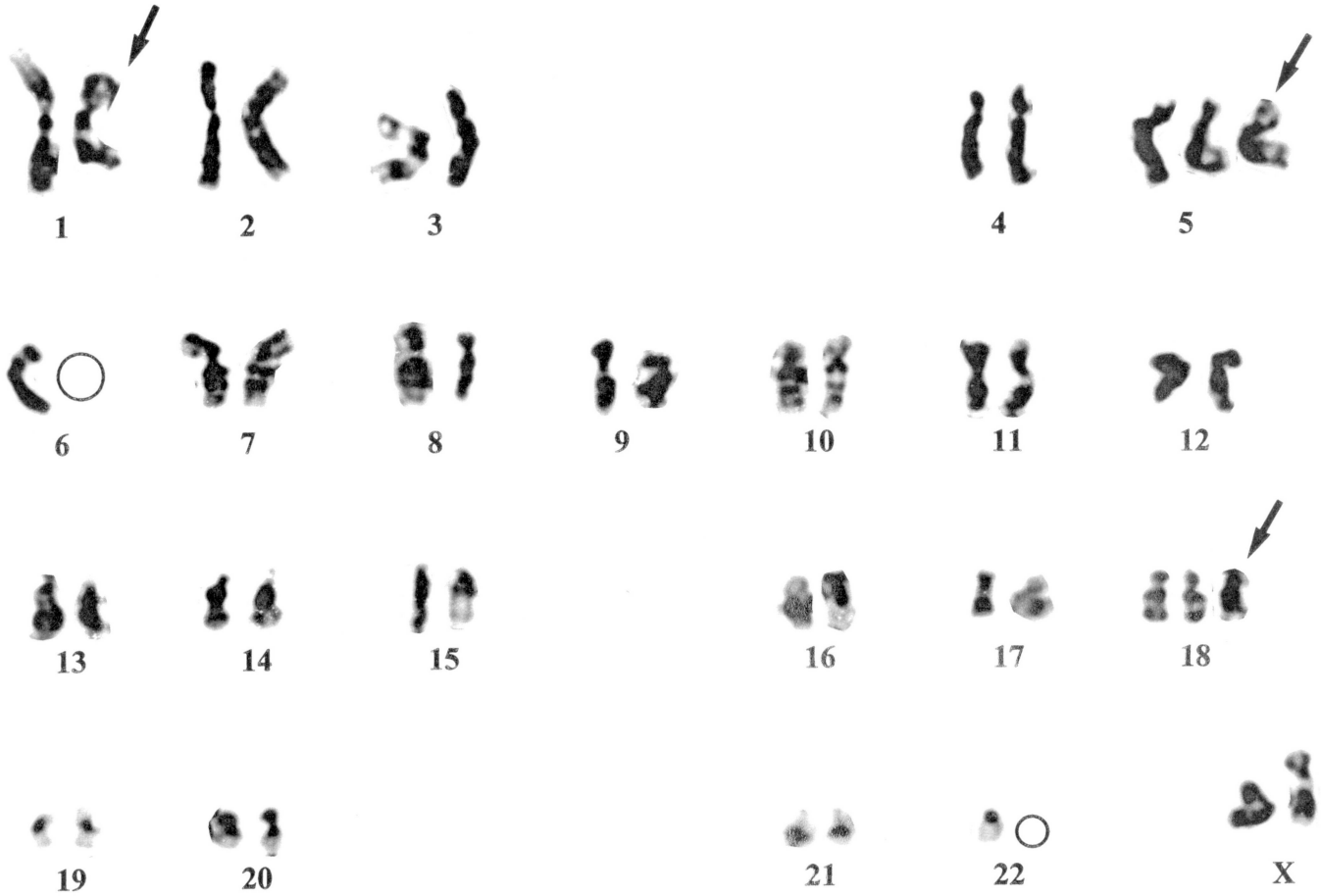


Figura 25 – Cariótipo representativo do caso 3: 46,XX,**del(1)(p32),+5**,-6,**+18**,-22.

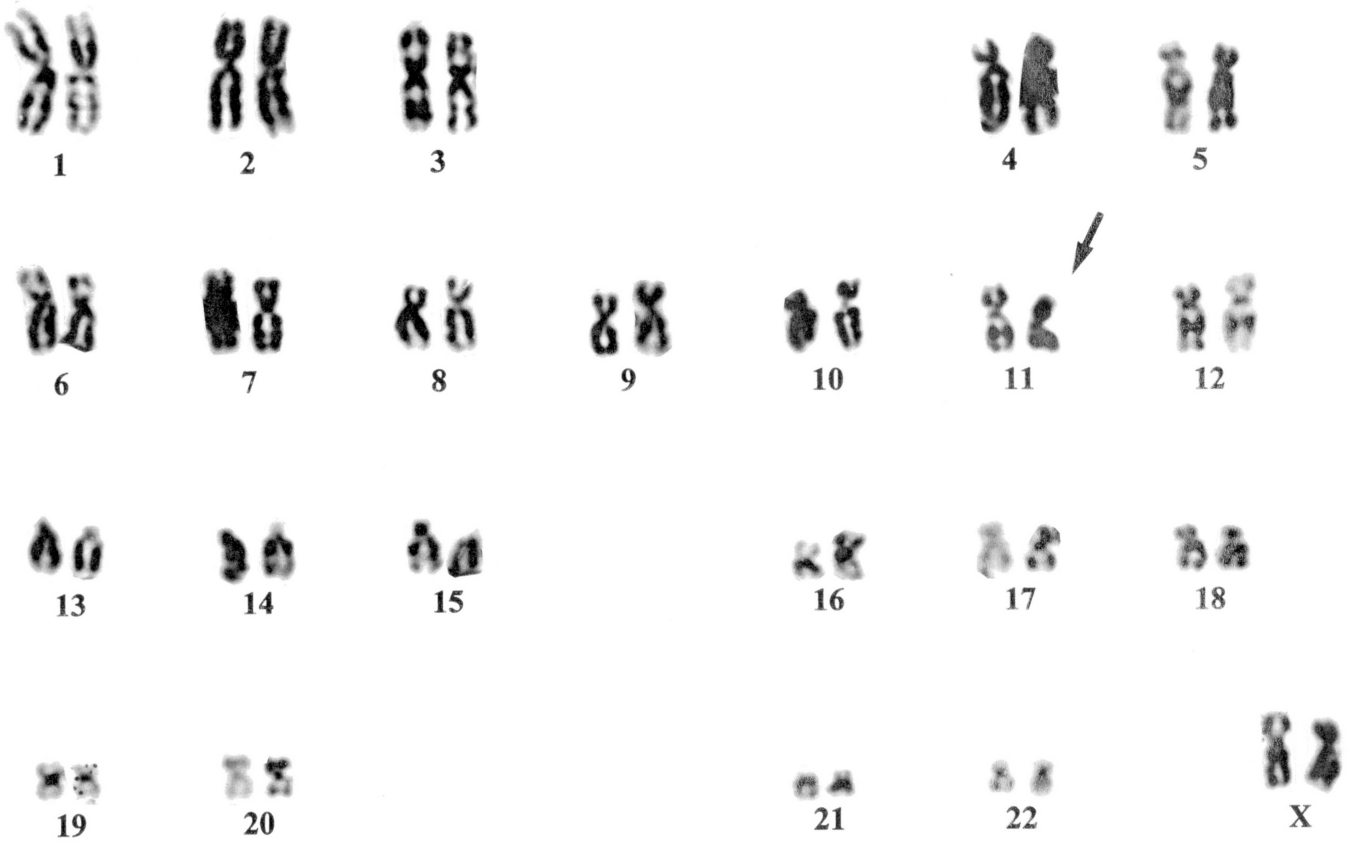


Figura 26 – Cariótipo representativo do caso 3: 46,XX,**del(11)(q23)**.

CASO 4: CARCINOMA DUCTAL INVASOR

Foram obtidas células metafásicas em três frascos de culturas primárias (II, III e IV), após 27 dias de cultivo "in vitro". O número modal foi igual a 46, observado em 80% das 100 células tumorais analisadas após coloração convencional, conforme tabela abaixo.

Tabela 22: Número modal por frasco e total

Número de Cromossomos	Número de células / frasco de cultura			
	II	III	IV	Total
Poliplóde	04	01	01	06
47	01	0	0	01
46	34	32	14	80
45	04	0	01	05
44	02	01	02	05
43	02	01	0	03
Total	47	35	18	100

A análise cromossômica, após bandeamento GTG, foi possível em 43 metáfases. As fórmulas cariotípicas estão apresentadas a seguir:

37,XX,-1,-5,-6,**-13**,**-16**,-17,**-18,-20**,**-21**

37,X,-X,-2,-3,-11,add(12)(q24),**-13**,-15,-15,**-18,-21**

37,X,-X,-6,-8,-10,-11,**-16**,-16,**-20,**-22

42,XX,**-4**,-12,**-13,-16**

44,XX,**-4**,-19

44,XX,-5,**-18**

44,XX,-8,**-16**

44,XX,-15**,-20**

45,XX,**-13**

45,XX,-17

45,XX,**-21**

45,XX,-12,del(14)(q22)

45,XX,-2,+9,del(11)(q23),-22

46,XX [22]

46,XX,**del(12)(p12)**[3]

46,XX,**-4**,**+7**

46,XX,-10,+12

46,XX,**+7,-13,-18,+21**

47,XX,**+20**

48,XX,**+20,+21**

Através da análise destas 43 células foi obtido o seguinte cariótipo:

37-48,XX,-4 [3],+7 [2],-13 [5],-16 [4],-18 [4],+20 [2],-20[3],-21 [3],+21 [2] [cp14] / 46,XX,del(12)(p12) [3] / 46,XX [22]

Das 43 metáfases analisadas, 22 (51,16%) eram normais e 21 (48,84%) apresentaram alterações cromossômicas, sendo que destas, 17 (80,95%) apresentaram alterações clonais e quatro (19,05%) apresentaram alterações não clonais. Foram observadas 31 alterações diferentes (duas nulissomias, 20

monossomias, cinco trissomias e quatro alterações estruturais), sendo que dez destas fizeram clones: seis monossomias, três trissomias e uma alteração estrutural.

As alterações cromossômicas observadas neste caso estão descritas na tabela 23 e ilustradas nas figuras 27 a 29, onde as flechas indicam as alterações clonais.

Tabela 23: Alterações cromossômicas observadas no caso 04

ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS	**NÚMERO DE CÉLULAS**	**FREQÜÊNCIA (%) (céls.alteradas/total)**	**FRASCO DE CULTURA**
NUMÉRICAS			
Clonais			
-13	05	11,63	III
-16, -18	04	9,30	II, III
-4, -20, -21	03	6,98	II, III
+7	02	4,65	II, III
+20, +21	02	4,65	III
Não clonais			
-X, -2, -8, -10, -11, -22	02	4,65	II
-6, -12, -17	02	4,65	II, III
-1, -15	01	2,32	III
-3, -5, -15-15, -19	01	2,32	II
+9, +12	01	2,32	II
ESTRUTURAIS			
Clonais			
del(12)(p12)	03	6,98	II, III
Não clonais			
del(11)(q23)	01	2,32	II
add(12)(q24)	01	2,32	II
del(14)(q22)	01	2,32	II

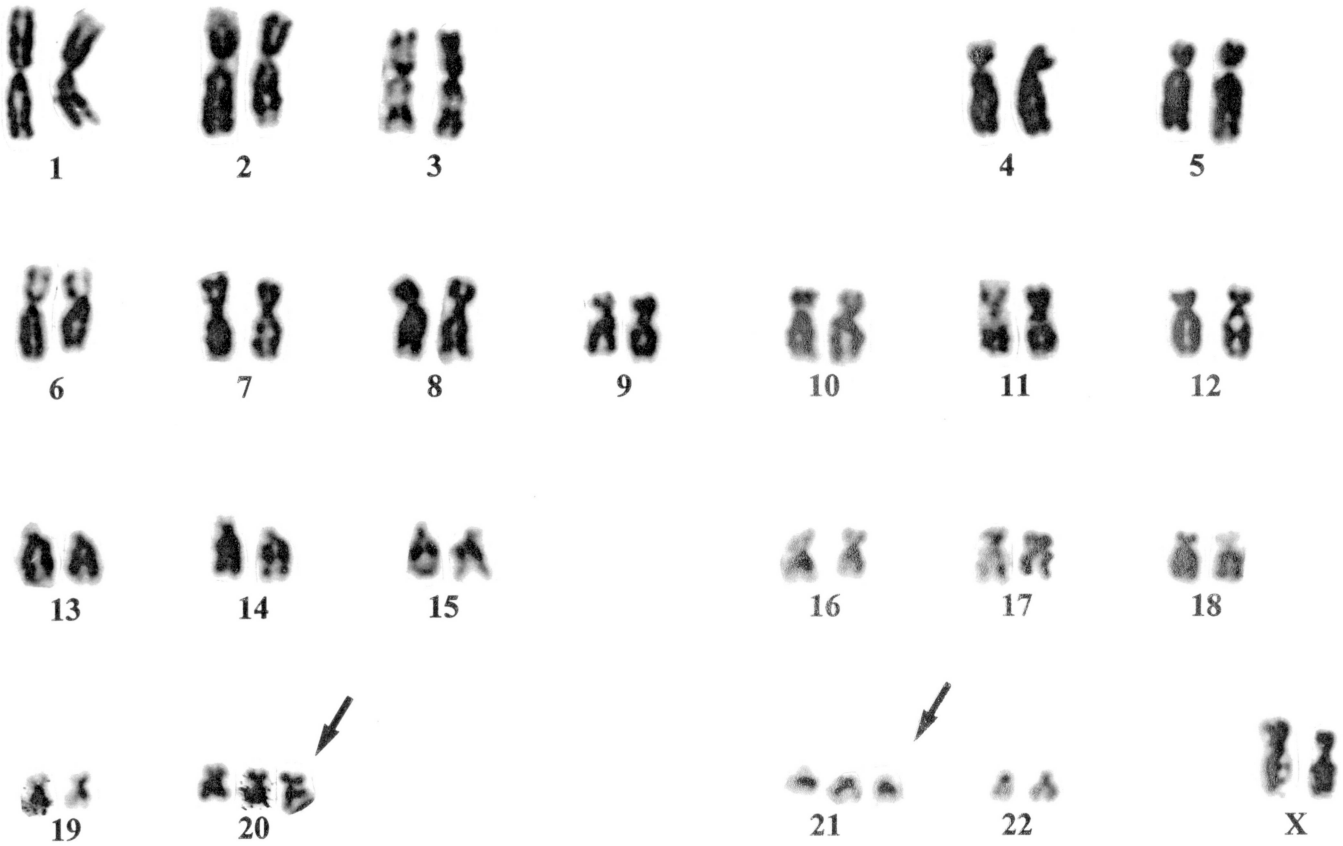


Figura 27 – Cariótipo representativo do caso 4: 48,XX,**+20,+21.**

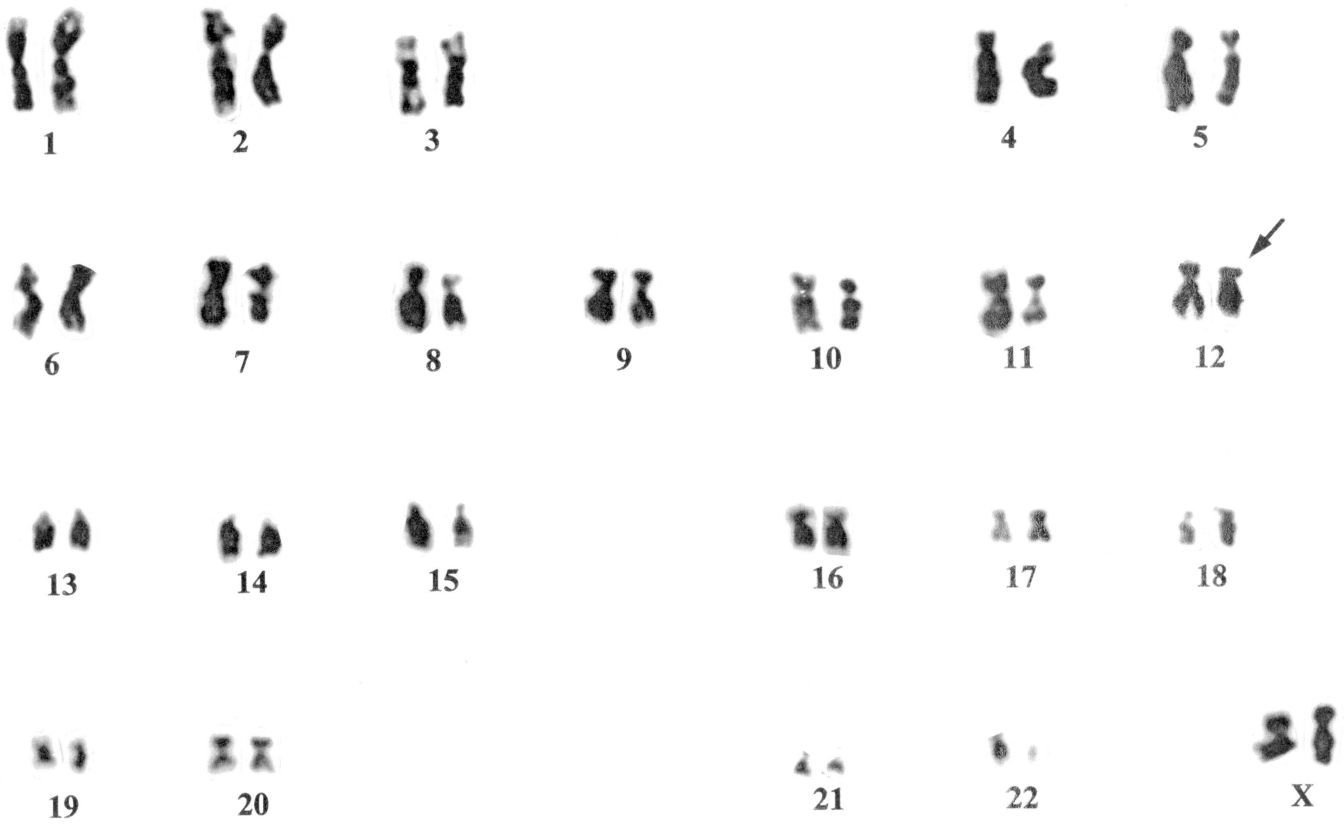


Figura 28 – Cariótipo representativo do caso 4: 46,XX,**del(12)(p12)**.

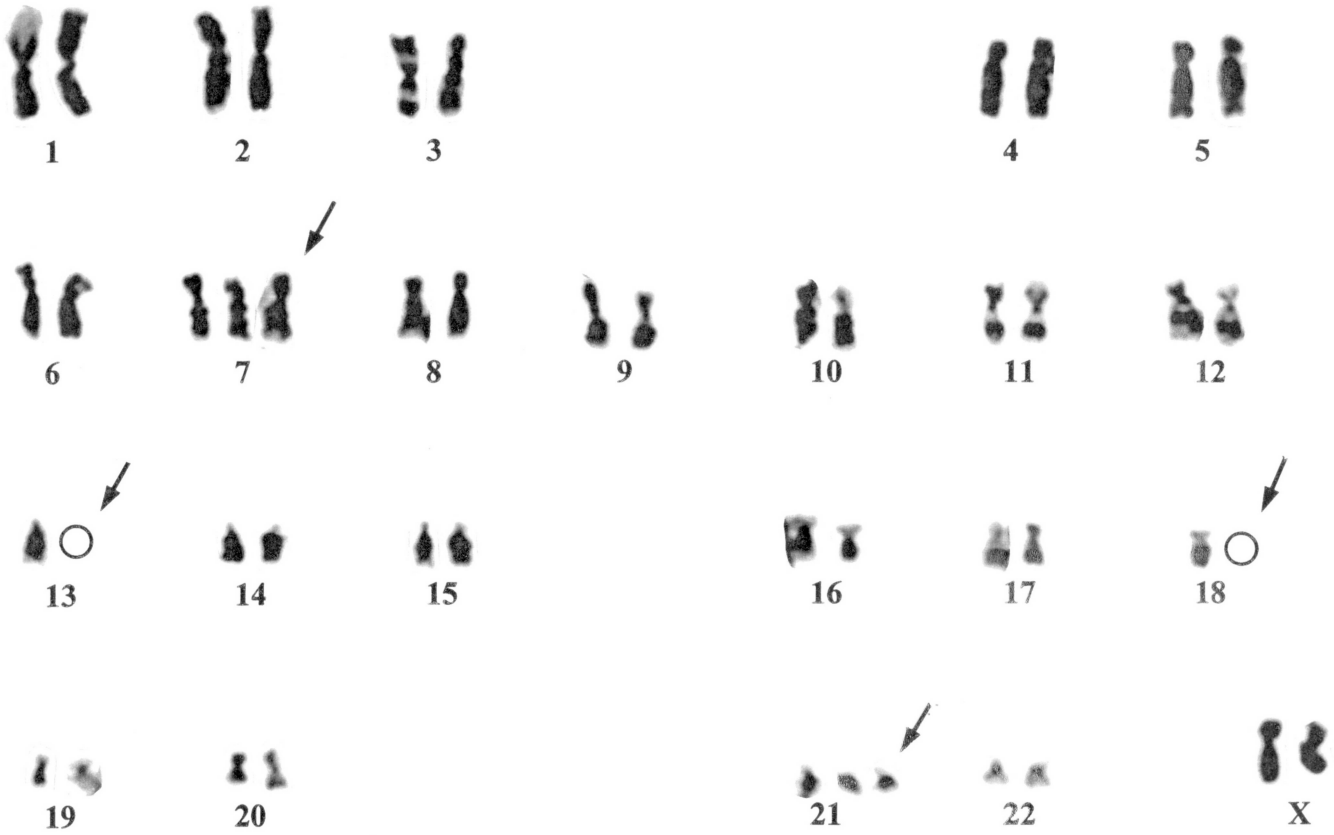


Figura 29 – Cariótipo representativo do caso 4: 46,XX,**+7,-13,-18,+21.**

CASO 5: CARCINOMA DUCTAL INVASOR

Foram obtidas células metafásicas em três frascos de culturas primárias (I, II e III) após 18 e 43 dias de cultivo "in vitro". O número modal foi igual a 46, observado em 50% das 100 células tumorais analisadas após coloração convencional, conforme tabela abaixo.

Tabela 24: Número modal por frasco e total

Número de Cromossomos	Número de células / frasco de cultura			
	I	II	III	Total
Poliplóide	09	09	10	28
54	01	0	01	02
47	0	0	01	01
46	38	0	12	50
45	03	0	03	06
44	02	0	03	05
43	01	0	01	02
42	02	0	0	02
41	01	0	02	03
39	0	0	01	01
Total	57	09	34	100

A análise cromossômica, após bandeamento GTG, foi possível em 42 metáfases. As fórmulas cariotípicas estão apresentadas a seguir:

40,X,-X,-5,-8,-9,-9,-19

44,XX,-5,-11

45,X,-X

45,XX,-1

45,XX,-21

45,XX, del(8)(q23),-10

45,XX, **+9,**-13,-18**,-22,+mar1**

45,XX,-4,-14,**+mar1**

46,XX [23]

46,XX,**+9,**-10

46,XX,-19,**+mar1**

46,XX, **+9,**-20

46,XX,**+19,-22** [02]

46,XX,**del(1)(q42)** [03]

46,XX,add(7)(q36)

46,XX,del(18)(p11)

47,XX,del(3)(q26)**,+9**

Através da análise destas 42 células foi obtido o seguinte cariótipo:

45-47,XX,+9[4],+19[2],-22[3],+mar1[3] [cp8] / 46,XX, del(1)(q42)[3] / 46,XX[23]

Das 42 metáfases analisadas, 23 (54,76%) eram normais e 19 (45,24%) apresentaram alterações cromossômicas, sendo que destas, 11 (57,89%) apresentaram alterações clonais e oito (42,11%) apresentaram alterações não clonais. *Foram observadas 23 alterações diferentes (uma nulissomia,* **14**

monossomias, duas trissomias e seis alterações estruturais), sendo que cinco destas fizeram clones: uma monossomia, duas trissomias e duas alterações estruturais.

As alterações cromossômicas observadas neste caso estão descritas na tabela 25 e ilustradas nas figuras 30 e 31, onde as flechas indicam as alterações clonais.

Tabela 25: Alterações cromossômicas observadas no caso 05

ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS	**NÚMERO DE CÉLULAS**	**FREQÜÊNCIA (%) (céls.alteradas/total)**	**FRASCO DE CULTURA**
NUMÉRICAS			
Clonais			
-22	03	7,14	I
+9	04	9,52	I, III
+19	02	4,76	I,III
Não clonais			
-5	02	4,76	II
-10	02	4,76	III
-X, -19	02	4,76	II, III
-1,-4,-13,-14,-18,-20	01	2,38	I
-8, -9-9, -11	01	2,38	II
-21	01	2,38	III
ESTRUTURAIS			
Clonais			
del(1)(q42)	03	7,14	I, III
mar1	03	7,14	I, III
Não clonais			
del(3)(q26)	01	2,38	I
add(7)(q36)	01	2,38	I
del(8)(q23)	01	2,38	III
del(18)(p11)	01	2,38	III

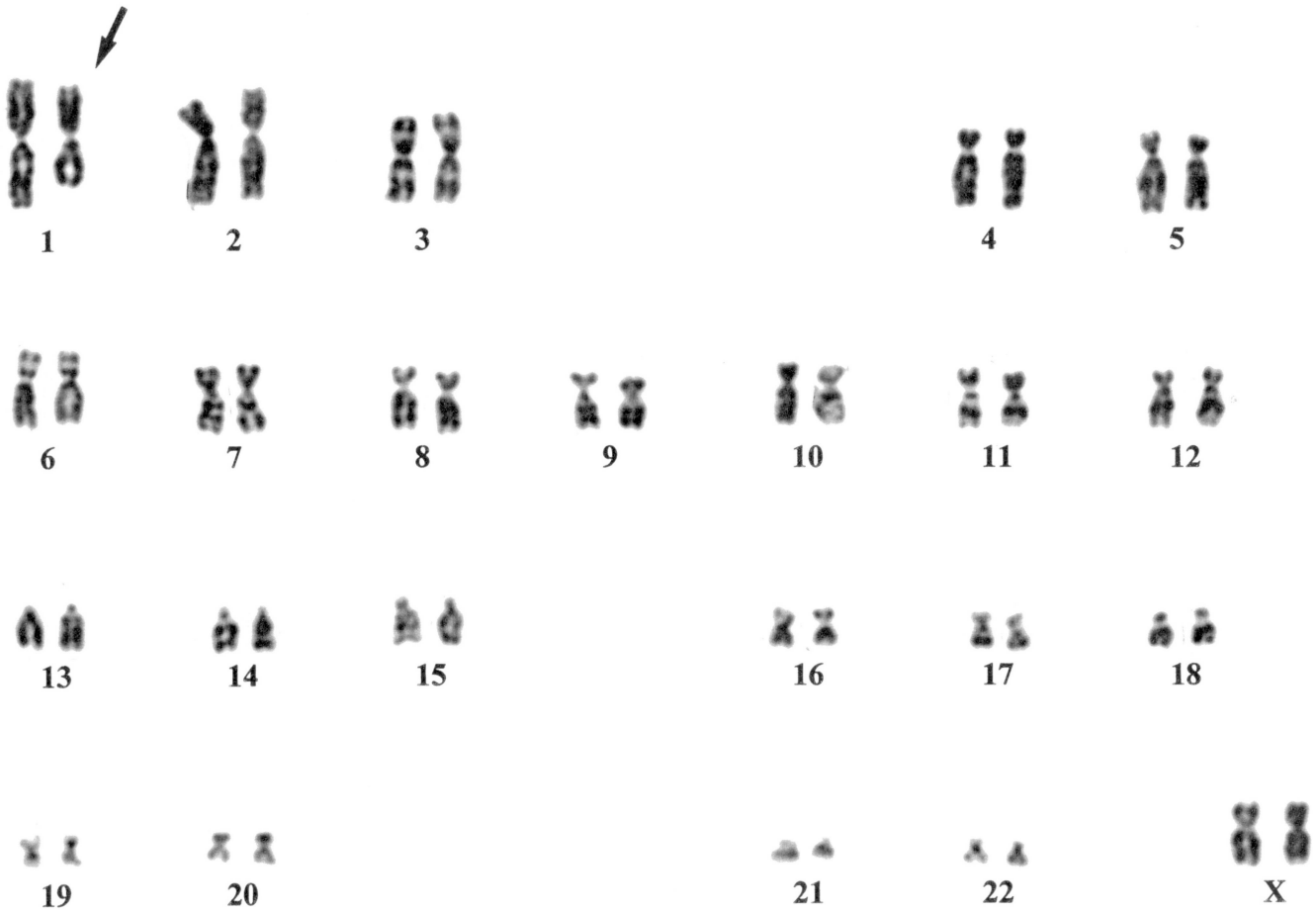


Figura 30 – Cariótipo representativo do caso 5: 46,XX,**del(1)(q42).**

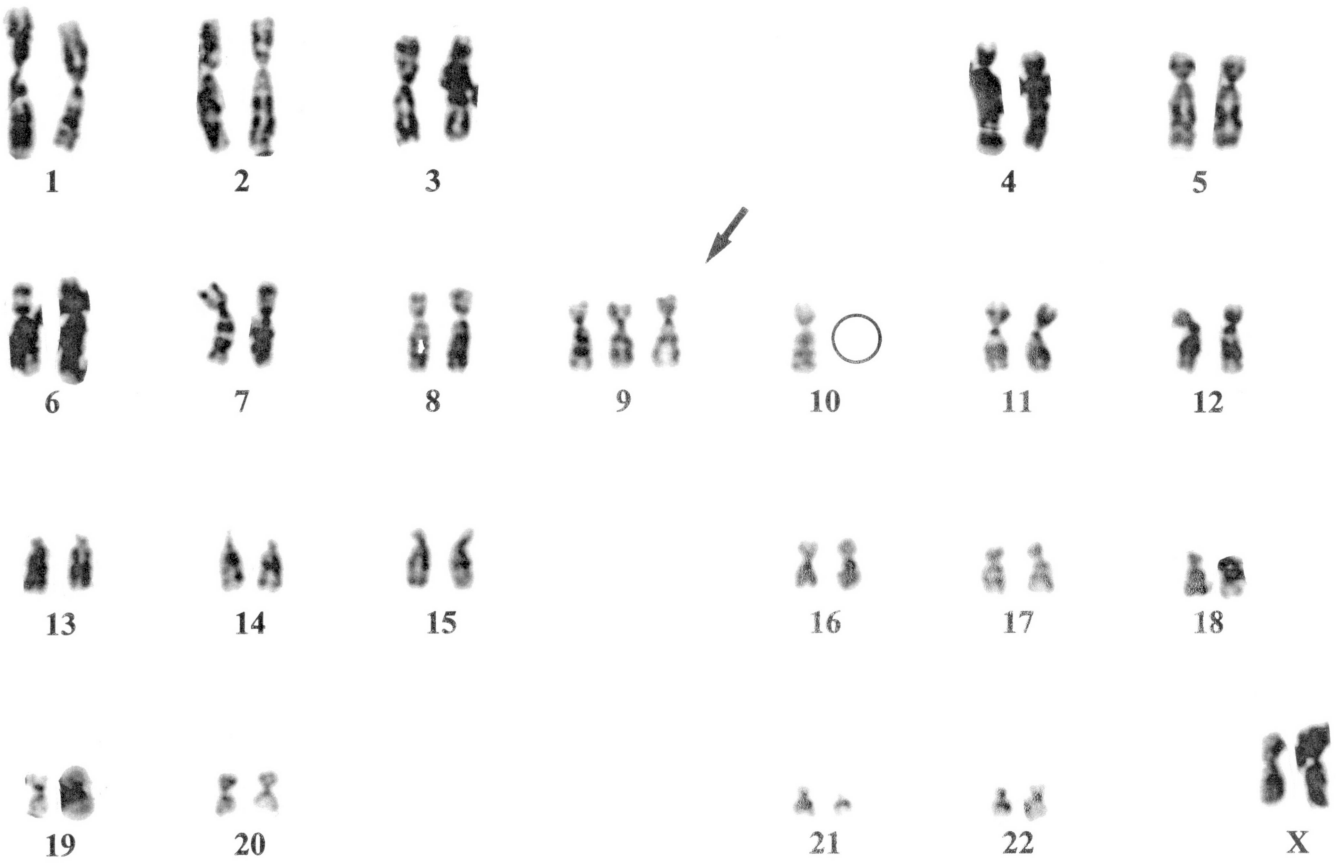


Figura 31 – Cariótipo representativo do caso 5: 46,XX,**+9**,-10.

Tabela 26: Alterações cromossômicas numéricas clonais observadas nos 5 carcinomas mamários

C	CASO 1		CASO 2		CASO 3		CASO 4		CASO 5		TP		TG	F(%)
	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T		
2	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	3	-	3	2,20
4	-	-	-	2	-	-	3	-	-	-	3	2	5	3,68
5	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	2	2	1,47
6	-	-	4	2	-	-	-	-	-	-	4	2	6	4,41
7	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	2	2	1,47
9	14	-	12	-	-	-	-	-	-	4	26	4	30	22,06
10	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	3	3	2,20
11	3	-	3	-	-	-	-	-	-	-	6	-	6	4,41
13	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	5	-	5	3,68
14	3	-	-	-	3	-	-	-	-	-	6	-	6	4,41
16	4	-	-	-	4	-	4	-	-	-	12	-	12	8,82
17	-	-	5	-	3	-	-	-	-	-	8	-	8	5,88
18	-	-	-	4	-	3	4	-	-	-	4	7	11	8,09
19	-	-	3	-	4	-	-	-	-	2	7	2	9	6,62
20	-	-	-	-	-	-	3	2	-	-	3	2	5	3,68
21	3	-	-	-	3	-	3	2	-	-	9	2	11	8,09
22	5	-	-	-	-	-	-	-	3	-	8	-	8	5,88
X	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	4	-	4	2,94
TP	32	-	34	8	17	8	22	6	3	6	108	28		
TG	32		38		25		28		9		136			

C = cromossomo; M = monossomia; T = trissomia; TP = total parcial; TG = total geral; F = freqüência.

Tabela 27: Alterações cromossômicas estruturais clonais observadas nos 5 carcinomas mamários

C	CASO 1	CASO 2	CASO 3	CASO 4	CASO 5	Total	F (%)
1	-	-	del(1)(p32)(2)	-	-	2	2,82
			-		del(1)(q42)(3)	3	4,22
6	+del(6)(q21)(18)	-	-	-	-	18	25,35
	del(6)(q23)(2)				-	2	2,82
11	-	-	del(11)(q23)(2)	-	-	2	2,82
12	-	-	-	del(12)(p12)(3)	-	3	4,22
14	der(14,21)(q10;q10)	-	-	-	-	34	47,89
	[34]						
mar	mar1(2)	mar1(2)	-		mar1(3)	7	9,86
	56	2	4	3	6	71	

C = cromossomo; ( ) = número de células; F = freqüência.

V. DISCUSSÃO

1. GRAUS DE PLOIDIA NOS CARCINOMAS OVARIANOS E MAMÁRIOS

Nos quatro carcinomas ovarianos analisados, foram contados os cromossomos de 177 metáfases em coloração convencional. O número de células analisadas variou de 25 a 100, com uma média de 44,25 ± 37,18 células contadas por tumor. Das 177 células analisadas, 61 (34,46%) apresentaram 46 cromossomos, com freqüências entre 24% (caso 5) a 55,55% (caso 4); 94 células (53,11%) apresentaram número cromossômico próximo ao diplóide (35-57 cromossomos), com freqüências variando de 37,04% (caso 4) a 76% (caso 5). Entre as células com número cromossômico próximo ao diplóide, as hipodiplóides foram mais freqüentes (84=89,36%) do que as hiperdiplóides (10=10,64%). As células com número cromossômico próximo ao triplóide e tetraplóide totalizaram 8 (4,52%) e as células com número cromossômico próximo ao haplóide foram 14 (7,91%) do total de células analisadas.

Nos quatro carcinomas ovarianos, 70 células foram analisadas pelo emprego do bandeamento GTG. O número de células analisadas variou de 14 a 20, com uma média de 17,5 ± 2,6 células estudadas por tumor. Das 70 células, 10 (14,28%) eram normais com freqüências entre 6,25% (caso 5) e 20% (caso 1); 10 (14,28%) eram pseudodiplóides com freqüências entre 0% (casos 3 e 5) e 35% (caso 4); 50 (71,43%) apresentaram número cromossômico próximo ao diplóide, com freqüências entre 50% (caso 4) e 93,75% (caso 5), das quais 40 (80%) eram hipodiplóides e 10 (20%) eram hiperdiplóides.

Considerando-se as freqüências obtidas nas análises sem e com bandeamento, obteve-se, respectivamente, para as células com 46 cromossomos 34,46% e 14,28%; próximas ao diplóide 53,11% e 71,43% (hipodiplóides 89,36% e 80%; hiperdiplóides 10,64% e 20%), com graus de ploidia diferentes dos acima citados (próximo ao haplóide, triplóide e tetraplóide) 12,43% e 0%.

Em três dos quatro carcinomas ovarianos analisados, o número cromossômico modal foi igual ao hipodiplóide (casos 1, 3 e 5) e em um caso foi igual a 46 cromossomos (caso 4), tanto na análise sem como com bandeamento.

Nos cinco carcinomas mamários analisados, foram contados os cromossomos de 473 metáfases em coloração convencional. O número de células analisadas variou de 73 a 100 com uma média de 94,6 $\pm$ 12,1 células contadas por tumor. Das 473 células analisadas, 252 (53,28%) apresentaram 46 cromossomos, com freqüências entre 35% (caso 1) a 80% (caso 4); 120 células (25,37%) apresentaram número cromossômico próximo ao diplóide (35-57 cromossomos), com freqüências variando de 7% (caso 3) a 58,9% (caso 1). Entre as células com número cromossômico próximo ao diplóide, as hipodiplóides foram mais freqüentes (103=85,83%) do que as hiperdiplóides (17=14,17%). As células com número cromossômico próximo ao triplóide e tetraplóide, 101, totalizaram 21,35% das células estudadas.

Nestes cinco carcinomas mamários, 209 células foram analisadas pelo emprego do bandeamento GTG. O número de células analisadas variou de 41 a 43, com uma média de 42 $\pm$ 0,9 células estudadas por tumor. Das 209 células, 82 (39,23%) eram normais com freqüências entre 0% (caso 1) e 24% (caso 3); 36

(17,22%) eram pseudodiplóides com freqüências entre 12,19% (caso 2) e 23,81% (caso 5); 90 (43,06%) apresentaram número cromossômico próximo ao diplóide, com freqüências entre 21,43% (caso 5) e 80,49% (caso 1), das quais 84 (93,33%) eram hipodiplóides e 6 (6,67%) eram hiperdiplóides. Uma célula (0,48%) apresentou 85 cromossomos.

Considerando-se as freqüências obtidas nas análises sem e com bandeamento, obteve-se respectivamente para as células com 46 cromossomos 53,28% e 39,23%; próximas ao diplóide 25,37% e 43,06% (hipodiplóides 85,83% e 93,33%; hiperdiplóides 14,17% e 6,67%), com graus de ploidia diferentes dos acima citados (próximo ao triplóide e tetraplóide) 21,35% e 0,48%.

Em três dos cinco carcinomas analisados (casos 2, 4 e 5), o número cromossômico modal foi igual a 46 cromossomos, em 1 (caso 1) foi igual ao hipodiplóide e em outro (caso 3) foi igual ao próximo ao tetraplóide (>80 cromossomos), na análise sem bandeamento. Com bandeamento, os casos 3, 4 e 5 apresentaram número modal igual a 46 cromossomos, enquanto que dois tumores (casos 1 e 2) apresentaram número modal igual ao hipodiplóide. Estes dados estão de acordo com os descritos na literatura.

Comparando-se os dados obtidos nas células estudadas sem e com bandeamento GTG, verifica-se nos carcinomas ovarianos que na primeira análise, 34,46% eram diplóides e com o bandeamento a freqüência das mesmas baixou para 14,28%, considerando-se as diplóides normais. Nos carcinomas mamários a mesma comparação indicou resultados no mesmo sentido. Sem o bandeamento GTG, a freqüência de células diplóides foi igual a 52,28% e com bandeamento a freqüência foi igual a 39,23%. Como o esperado, as diferenças observadas nos

dois tipos de análises nos carcinomas ovarianos e mamários deve-se, principalmente, à inclusão na contagem de células sem bandeamento das células pseudodiplóides não identificáveis nesta análise. Dados semelhantes foram obtidos por duas outras autoras do nosso grupo (CAVALLI, 1994; CORNÉLIO, 1999). Nos dois tipos de carcinomas, as freqüências de células com número cromossômico próximo e diferente do diplóide não contribuíram de forma importante para as diferenças observadas nos dois tipos de análises.

As freqüências de células com 46 cromossomos, próximas ao diplóide e com graus de ploidia diferentes dos citados, mantiveram-se, em geral, na mesma direção nas análises sem e com bandeamento GTG, tanto nos carcinomas ovarianos como nos mamários. Estes dados também estão na mesma direção daqueles obtidos por CAVALLI (1994) e CORNÉLIO (1999). A ausência ou a baixa freqüência (0,48%) de células com graus de ploidia diferentes do diplóide e do próximo ao diplóide observadas nos carcinomas ovarianos e mamários, respectivamente, nas células analisadas com bandeamento GTG, deve-se à má qualidade das metáfases poliplóides, o que dificultou uma análise completa e determinou a exclusão das mesmas da amostra.

Muitos autores têm se concentrado no conteúdo de DNA celular dos tumores como um fator prognóstico em diversos tipos de cânceres humanos. A determinação do conteúdo de DNA celular por citometria de fluxo, que realiza a coloração do núcleo com um corante DNA específico, e mede o conteúdo de DNA, proporcional à fluorescência emitida pelas células (BIÈCHE e LIDEREAU, 1995), pode ser importante na obtenção de informações prognósticas e para a avaliação da evolução genética e heterogeneidade do tumor (DEVILEE e CORNELISSE,

1994). No entanto, a correlação entre a ploidia e o prognóstico de pacientes com câncer de ovário não é conclusiva. Pacientes com tumores ovarianos diplóides são descritos como tendo um tempo de sobrevida maior do que os pacientes com tumores aneuplóides, porém há trabalhos cujos dados não confirmaram este achado (KIGAWA *et al.*, 1993).

Diversos fatores, tais como idade do paciente, modelo de quimioterapia, procedimento cirúrgico, características histológicas do tumor e grau histológico, também influem no prognóstico e uma relação clara entre o conteúdo de DNA do tumor e prognóstico ainda não foi estabelecida (KIGAWA *et al.*, 1993).

Nos cânceres ovarianos, o conteúdo de DNA (ploidia) é freqüentemente anormal. Em diferentes trabalhos, de 52% a 83% dos tumores eram aneuplóides, enquanto que 17% a 48% eram diplóides (BRESCIA *et al.,* 1990). Neoplasmas benignos e tumores limite não metastáticos têm sido analisados e descritos unanimemente como diplóides. Este fato sugere que a aneuploidia seja uma característica de malignidade (ELBENDARY *et al.*, 1995).

O câncer de mama é um dos tumores sólidos mais extensivamente estudados através de citometria de fluxo. Cerca de 60% a 80% dos casos mostram evidências de índice de DNA aneuplóide. Carcinomas medulares são normalmente aneuplóides, enquanto que carcinomas tubulares, mucinosos e lobulares infiltrantes tendem a ser diplóides. Cerca de 60% a 70% dos carcinomas ductais infiltrantes são aneuplóides. As percentagens descritas de casos aneuplóides em carcinoma ductal *in situ* variam entre 20% e 50% (DEVILEE e CORNELISSE, 1994).

A utilização potencial da ploidia como fator prognóstico tem sido investigada em diversos estudos (HEDLEY *et al.,* 1993) e concluiu-se que cânceres de mama com um índice de DNA 1,0 (diplóide) têm um prognóstico favorável, mas a magnitude desta vantagem quando comparada a tumores aneuplóides é pequena. Além disso, o índice de DNA não atinge significado prognóstico independente em uma análise multivariada devido a correlações com fatores prognósticos mais poderosos (DEVILEE e CORNELISSE, 1994).

2. ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS NUMÉRICAS E ESTRUTURAIS OBSERVADAS NOS TUMORES OVARIANOS

2.1 Carcinomas ovarianos

Foram analisados citogeneticamente quatro carcinomas ovarianos. Nestes, 70 células foram analisadas pelo emprego do bandeamento GTG, das quais 10 (14,29%) apresentaram um cariótipo normal e 60 (85,71%) revelaram alterações cromossômicas. Das células com alterações, 45 (75%) mostraram alterações cromossômicas clonais. No total, foram observadas 225 aberrações, com uma média de 56,25 ± 21,82 alterações por tumor, sendo que 115 (51,11%) delas formaram os 36 clones detectados, com freqüências variando desde 5 (4,35% - caso 3) até 52 alterações (45,22% - caso 5) e com uma média de 27,75 ± 19,28 alterações por tumor.

Os cromossomos mais freqüentemente envolvidos nas 115 aberrações cromossômicas clonais foram: 18 (14=12,17%), 17 (13=11,30%), 16 (11=9,56%), 20 (8=6,96%) e 22 (7=6,09%). Os cromossomos 8, 10 e 19 apresentaram uma freqüência pouco superior a 5% (6=5,22%) e os cromossomos 1, 2, 4, 6, 7, 11, 12, 13, 14, 15, 21 e X apresentaram freqüências de aberrações clonais inferiores a 5%, enquanto que os cromossomos 3, 5 e 9 não as apresentaram. Estes dados indicam que as aberrações cromossômicas não ocorrem ao acaso em todos os cromossomos do genoma, o que se confirma quando aplicamos aos dados da tabela 14, acrescentando as 13 aberrações estruturais clonais, o teste do χ^2 (χ^2_{22}=61,60; P<0,001). Retirando-se da amostra 8 cromossomos ou por apresentarem uma maior freqüência de aberrações (18, 17, 16, 20 e 22) ou por não as apresentarem (3, 5 e 9), verificou-se que as mesmas ocorreram ao acaso nos 15 cromossomos restantes (χ^2_{14}=6,73; P>0,90).

As alterações numéricas (102 = 88,69%) foram muito mais freqüentes que as estruturais (13 = 11,30%) (χ^2_1=68,88; P<0,001), e entre as numéricas, as monossomias (77= 75,49%) foram mais freqüentes que as trissomias (25 = 24,51%) (χ^2_1=26,50; P<0,001).

As 102 alterações numéricas clonais envolveram principalmente os cromossomos 18 (14=13,72%), 16 (11=10,78%), 17 (10=9,80%), 20 (8=7,84%) e 22 (7=6,86%). Os cromossomos 8, 10 e 19 apresentaram uma freqüência de aberrações numéricas clonais próxima a 6% (6=5,88%) e os cromossomos 4, 7, 11, 12, 13, 14, 15, 21 e X apresentaram freqüência inferior a 5%, enquanto que os cromossomos 1, 2, 3, 5, 6 e 9 não as apresentaram.

As 13 alterações estruturais clonais foram detectadas em dois dos quatro tumores analisados, sendo que o caso 4 apresentou o maior número destas alterações (9=69,23%), seguido pelo caso 1 (4=30,77%). A del(6)(q23) foi a mais freqüente entre as estruturais (4=30,77%), seguindo-se a del(17)(p11) (3=23,08%) e a del(1)(q42), i(2)(p10) e del(X)(q25) cada uma representando 15,38% (2/13) das aberrações estruturais clonais.

Aberrações numéricas clonais do cromossomo 18 foram as mais freqüentemente observadas nos quatro carcinomas estudados, representado em 14 das 115 (12,17%) aberrações clonais. Entre as células com alterações, a monossomia do cromossomo 18 foi observada em 3/17 células (17,65%) no caso 4 e 3/15 células (20%) no caso 5. A trissomia deste cromossomo ocorreu em 3/16 células (18,75%) no caso 1, em 2/12 células (16,67%) no caso 3 e em 3/17 células (17,65%) no caso 4. Não foram observadas aberrações estruturais, envolvendo o cromossomo 18.

A monossomia do cromossomo 18 tem sido descrita por vários autores em tumores de ovário: PEJOVIC *et al.* (1992a), BERG-BAKER *et al.* (1993); YANG-FENG *et al.* (1993); BROCK *et al.* (1996); DEGER *et al.* (1997). BROCK *et al.* (1996) observaram por hibridização *in situ* de 30 amostras de carcinomas ovarianos, 20% dos tumores com monossomia do cromossomo 18. Além disso, em duas amostras com um número cromossômico próximo ao diplóide com esta alteração e em uma amostra hiperdiplóide, a monossomia do cromossomo 4 também foi detectada. Baseados nestes achados, os autores sugeriram que

possíveis genes supressores localizados nos cromossomos 4 e 18 estejam envolvidos em estágios da progressão do carcinoma de ovário.

No presente estudo encontramos a trissomia do cromossomo 18 em 75% dos casos analisados. TIBILETTI *et al.* (1996) descreveram quatro carcinomas ovarianos com trissomia deste cromossomo. Apesar das descrições desta aberração serem raras em carcinomas ovarianos, os nossos dados são sugestivos de que a mesma esteja envolvida na progressão tumoral, já que em geral foi observada associada a outras aberrações principais, como del(6q)(25-26),+12,-22.

As aberrações cromossômicas clonais do cromossomo 17 estiveram entre as mais freqüentemente observadas nos quatro carcinomas ovarianos, estando presente em 13 das 115 (11,30%) aberrações clonais. Entre as células com alterações, a monossomia deste cromossomo foi observada em 4/16 células (25%) no caso 1 e em 6/15 células (40%) no caso 5. O cromossomo 17 apresentou alterações estruturais em 3/17 células (17,65%) no caso 4, onde havia uma del(17)(p11).

A localização de vários proto-oncogenes e genes supressores tumorais no cromossomo 17, incluíndo *TP53, THRA1, BRCA1, NME1, ERBB2, RARA, 17HSD1 e 17HSD2, PHB,* tem chamado a atenção para o envolvimento do cromossomo 17 na patogênese dos tumores ovarianos, principalmente LOH neste cromossomo (LEE *et al.,* 1990; PEJOVIC *et al.,* 1992a; YANG-FENG *et al.,* 1992, 1993; BERG-BAKKER *et al.,* 1993; PHILLIPS *et al.,* 1993; TAVASSOLI *et al.,* 1993; THOMPSON *et al.,* 1994; GALLION *et al.,* 1995; SHENSON *et al.,* 1995; BROCK *et al., 1996*; DIEBOLD *et al., 1996*; TIBILETTI *et al., 1996*; CHOI *et al.,*

1997; CADUFF *et al.,* 1999). TAVASSOLI *et al.* (1993) observaram que a LOH em 17p e 17q são as alterações genômicas mais comumente descritas em tumores ovarianos. Os autores analisaram 12 tumores benignos e 19 malignos para LOH no cromossomo 17, sendo que a mesma foi detectada em seis de 11 tumores malignos informativos; três dos seis tumores eram carcinomas epiteliais de estágio I, sugerindo que a perda alélica neste cromossomo seja um evento inicial na patogênese de alguns tumores ovarianos. Diversos estudos detectaram a LOH em ambos os braços do cromossomo 17, sugerindo a possibilidade de uma associação entre pelo menos dois locos, um em cada braço do cromossomo 17, com a carcinogênese ovariana.

SHENSON *et al.* (1995) observaram que a LOH no cromossomo 17 era mais freqüente nos carcinomas metastáticos e que monossomias do 17 só estavam presentes nesta categoria tumoral. Apesar disso, deleções alélicas restritas ao cromossomo 17 foram identificadas também em dois tumores ovarianos primários, sugerindo que a inativação de genes supressores tumorais neste cromossomo, tais como *TP53, BRCA1* e *NM23*, seja importante no desenvolvimento de tumores ovarianos endometrióides, mais relacionados aos tumores em estágios avançados.

Aberrações numéricas clonais do cromossomo 16 foram também freqüentes nos quatro carcinomas estudados, sendo observadas em 11 das 115 (9,56%) aberrações clonais. Entre as células com alterações, a monossomia deste cromossomo foi detectada em 3/17 células (17,65%) no caso 4 e em 6/15 células (40%) no caso 5. A trissomia do cromossomo 16 foi observada em 2/17

células (11,76%) no caso 4. Não foram observadas alterações estruturais envolvendo este cromossomo entre os carcinomas analisados.

Anormalidades do cromossomo 16 em tumores ovarianos foram descritas em alguns estudos (LOPES *et al.,* 1990; SATO *et al.,* 1991a; YANG-FENG *et al.,* 1993; THOMPSON *et al.*, 1994; PEJOVIC *et al.*, 1996a; TIBILETTI *et al.*, 1996). Estas alterações também já foram descritas em vários outros neoplasmas malignos (adenomas de colon e de glândula salivar) e somente em poucos tumores de baixo grau de malignidade (Mitelman, 1988 - citado por LOPES *et al.,* 1990). LOPES *et al.* (1990) sugeriram que as aberrações, envolvendo o cromossomo 16, possam indicar um comportamento biológico mais agressivo do tumor. No presente estudo, encontramos alterações, envolvendo o cromossomo 16 nos adenocarcinomas (malignos), reforçando a sugestão de LOPES *et al.* (1990).

As alterações detectadas no cromossomo 20 foram responsáveis por 6,96% (8/115) das aberrações clonais observadas neste trabalho. Entre as células com alterações, a trissomia deste cromossomo esteve presente em 6/17 células (35,29%) no caso 4 e em 2/15 células (13,33%) no caso 5. Alterações estruturais desse cromossomo não foram observadas no presente trabalho.

A trissomia do cromossomo 20 foi observada em 20 carcinomas ovarianos de 144 casos descritos na literatura (YANG-FENG *et al.*, 1988; THARAPEL *et al.*, 1991; PEJOVIC *et al.*, 1992a, 1996a, 1996b; BERG-BAKKER *et al.*, 1993; THOMPSON *et al.*, 1994; DEGER *et al.*, 1997; VAN ECHTEN *et al.*, 1998). Nestes trabalhos, esta aberração foi identificada em cariótipos com outras aberrações, e

no presente estudo das 8 células com trissomia do cromossomo 20, 6 (75%) também apresentavam outras aberrações, fazendo-nos acreditar que esta seja uma alteração secundária.

Aberrações numéricas clonais do cromossomo 22 representaram 7 das 115 (6,09%) aberrações clonais identificadas nos quatro carcinomas de ovário. Entre as células com alterações, a monossomia deste cromossomo foi observada em 4/16 (25%) no caso 1 e 3/15 (20%) no caso 5. Alterações estruturais deste cromossomo não foram observadas no presente trabalho.

A monossomia do cromossomo 22 foi descrita em 39 casos de tumores ovarianos (GÓRSKI *et al.,* 1992; PEJOVIC *et al.,* 1992a, 1996b; BERG-BAKKER *et al.,* 1993; TIBILETTI *et al.,* 1996; DEGER *et al.,* 1997; SPELEMAN *et al.,* 1997), sempre em associação com outras alterações numéricas e/ou estruturais. Essa alteração tem sido observada também em outros tipos tumorais, sendo freqüente em meningiomas, em ¾ dos casos catalogados (MITELMAN, 1994). A monossomia do 22 nestes casos resulta na perda de um alelo do gene supressor da neurofibromatose tipo 2 (*NF2*), localizado em 22q12 (SPELEMAN *et al.,* 1997).

Dentre as aberrações estruturais clonais, foi observada uma deleção, envolvendo o cromossomo 1, del(1)(q42) em 2/16 células (12,5%) no caso 1.

Deleções no braço longo do cromossomo 1 foram descritas em 19 carcinomas ovarianos estudados (PEJOVIC *et al.*, 1992a, 1996b; THOMPSON *et al.*, 1994; DEGER *et al.*, 1997; VAN ECHTEN *et al.*, 1998). Em apenas 2 desses carcinomas a alteração presente foi a del(1)(q42), identificada em nosso estudo.

Alterações numéricas e estruturais, envolvendo o cromossomo 1 são as alterações citogenéticas mais comumente observadas em câncer de ovário (DEGER *et al.*, 1997), e na maioria dos tumores, independente do tecido de origem (MITELMAN, 1994). Embora provavelmente relacionadas à progressão tumoral, estas anormalidades podem ocorrer nos estágios iniciais deste processo, uma vez que, já foram descritas em casos com cariótipos quase diplóides e em tumores de baixo potencial maligno (THOMPSON *et al.*, 1997). Estas alterações mais comumente envolvem a região 1p36. TAETLE *et al.* (1999) descreveram uma série de 244 casos de carcinomas ovarianos analisados citogeneticamente, indicando como aberrações proeminentes a perda do braço curto e ganho do braço longo do cromossomo 1, além da freqüente ocorrência de i(1q). Estes achados do envolvimento não casual do cromossomo 1 reforçam o papel importante de genes neste cromossomo na patogênese e progressão do câncer de ovário.

Outra aberração estrutural clonal observada foi a deleção no braço longo do cromossomo 6, del(6)(q23), em 3/17 células (17,65%) no caso 4.

Deleções no braço longo do cromossomo 6 foram descritas em 46 carcinomas de ovário, sendo que em 5 as mesmas ocorreram no mesmo ponto de quebra descrito por nós (PEJOVIC *et al.*, 1992a, 1996b; BERG-BAKKER *et al.*, 1993; TIBILETTI *et al.*, 1996; DEGER *et al.*, 1997).

Estas alterações, envolvendo o cromossomo 6 têm sido freqüentemente associadas ao carcinoma de ovário. Rearranjos de 6q são relativamente comuns em outros adenocarcinomas tais como de mama

(DUTRILLAUX *et al.*, 1990), pâncreas (JOHANSSON *et al.*, 1992) e glândula salivar (SANDROS *et al.*, 1988) e são alterações consistentes em melanomas malignos (TRENT *et al.*, 1989). A ocorrência destas alterações em diversos tipos de tumor sugere que elas sejam secundárias, relacionadas à progressão tumoral (PEJOVIC *et al.*, 1992a). O cromossomo 6 tem sido indicado como contendo um suposto gene supressor tumoral importante na patogênese do câncer ovariano, tanto pela análise cariotípica como pelos estudos de perda de heterozigosidade (COOKE *et al.*, 1996). Diversos estudos têm demonstrado uma região comum de deleção em 6q, localizada em 6q27 (YANG-FENG *et al.*, 1993; COOKE *et al.*, 1996; SAITO *et al.*, 1996; TIBILETTI *et al.*, 1996), reforçando a sugestão de que esta deleção represente uma alteração primária na tumorigênese ovariana, tornando-a um valioso marcador no reconhecimento desta neoplasia (TIBILETTI *et al.*, 1996).

2.2 Teratoma maduro.

No presente trabalho, analisamos citogeneticamente um teratoma maduro. Para discutirmos nossos resultados, confrontamos com os dados de 114 teratomas, sendo 100 maduros, 2 maduros com degeneração maligna e 12 imaturos (IHARA *et al.,* 1983; YANG-FENG *et al.*, 1988; KING *et al.*, 1990; SURTI *et al.*, 1990; GIBAS *et al.*, 1993).

A grande maioria dos teratomas ovarianos é de neoplasmas benignos maduros de origem de célula germinativa (GIBAS *et al.*, 1993). Os teratomas maduros na maioria dos casos mostram um cariótipo normal. SURTI *et al.*, (1990) *analisaram citogeneticamente 102 teratomas maduros, sendo que destes, 95*

(93,14%) apresentaram cariótipo normal, e os outros casos apresentaram anormalidades numéricas: +X, +7, +8, +12, -13, -15, +15 e +21, e somente uma alteração estrutural, que foi a presença de um cromossomo marcador.

No nosso estudo foram encontradas diversas aberrações cromossômicas. Entre as alterações numéricas foram observadas as monossomias dos cromossomos 6, 13, 14, 16, 17 e 21, e as trissomias dos cromossomos 14 e 21. Entre as alterações estruturais observamos: del(X)(q25), del(5)(p15), del(16)(p11) e del(17)(p11).

O cromossomo 21 apresentou alterações numéricas em 36,84% das células estudadas. Em três destas, foi observada trissomia e em quatro a monossomia deste cromossomo.

A monossomia do cromossomo 21 foi observada em 28 casos de carcinomas primários de ovário e a trissomia em 11 casos de tumores ovarianos, sendo um deles um teratoma maduro e outro um teratoma imaturo (IHARA *et al.*, 1983; YANG-FENG *et al.*, 1988; SPELEMAN *et al.*, 1990; SURTI *et al.*, 1990; PEJOVIC *et al.*, 1992a, 1996b; BERG-BAKKER *et al.*, 1993; DEGER *et al.*, 1997; VAN ECHTEN *et al.*, 1998).

A trissomia do cromossomo 21 foi descrita por SURTI *et al.* (1990) em um teratoma maduro com cariótipo 47,XX,-15,+21,+mar e por IHARA *et al.* (1983) em um teratoma imaturo com cariótipo 48,XX,+14,+21, podendo esta alteração estar relacionada à progressão tumoral.

Alterações numéricas envolvendo o cromossomo 14 foram freqüentes no teratoma estudado, sendo observadas em 31,58% (6/19) do total de células analisadas (três com +14 e três com -14). Observamos que a trissomia deste cromossomo foi descrita em dois teratomas imaturos por IHARA *et al.* (1983) e KING *et al.* (1990); em um caso, com a trissomia do 21, e no outro em três clones diferentes: como única aberração, com trissomia do 3, e com trissomia do 3 e do 14. Pelo fato de termos visto esta alteração em um teratoma maduro, sugerimos que esta aberração possa estar relacionada aos estágios iniciais do desenvolvimento tumoral. Além disso, BANDERA *et al.,* 1997, discutem que a LOH no cromossomo 14, principalmente nas regiões 14q12-13 e 14q32, bem como a sua monossomia, podem indicar a presença de genes supressores tumorais neste cromossomo, que tenham papel importante na tumorigênese ovariana.

O braço longo do cromossomo 14 é a região mais freqüentemente descrita com LOH em tumores malignos de tecidos sólidos (COX *et al.,* 1994). O loco da cadeia pesada de imunoglobulina humana está em 14q32 e translocações associadas com câncer, com freqüência, envolvem este loco (McBRIDE *et al.,* 1982).

Alterações numérica e estrutural foram observadas, envolvendo o cromossomo 16, em 36,84% (7/19) do total de células analisadas (cinco com monossomia e duas com del(16)(p11)). Como já foi discutido para os carcinomas ovarianos, LOPES *et al.* (1990) sugeriram que as aberrações, envolvendo o cromossomo 16, possam indicar um comportamento biológico mais agressivo do

tumor. Além disso, SURTI *et al.* (1990) indicam que degenerações malignas podem ocorrer em 1,9% dos casos de teratomas maduros, fato que sugere estar este teratoma nesta categoria.

Entre as alterações estruturais clonais, a mais freqüente foi a del(X)(q25), envolvendo 26,31% (5/19) do total de células analisadas.

Deleções, envolvendo o braço longo do cromossomo X (Xq21 e Xq24), foram descritas por BERG-BAKKER *et al.* (1993) em dois carcinomas de ovário. Outros casos de deleção deste cromossomo envolvem o braço longo na mesma região por nós detectada, Xq25. CHOI *et al.* (1997) analisaram LOH em pelo menos 13 locos do cromossomo X em 123 amostras tumorais. Foi analisada também a associação entre a LOH em Xq e outros parâmetros, incluíndo grau histológico, estágio, tipo de tecido e LOH no loco *TP53* localizado no cromossomo 17. Foi observada a LOH em 37 carcinomas (33%) em pelo menos um loco no cromossomo X. Entre estes, 32 (28.6%) mostraram LOH em vários locos em Xq25-26.1. A LOH em Xq foi associada com tumores de alto grau de malignidade e estágio avançado. Para o loco *TP53* foram analisados 123 casos. Dos 65 casos informativos, 33 (50%) mostraram LOH em *TP53*, que também foi associada com tumores de alto grau de malignidade e estágios mais avançados. Estes tumores com LOH em *TP53* foram mais freqüentemente encontrados com LOH em Xq do que os sem LOH em *TP53*. Estes resultados sugerem que a perda da função do gene *TP53* ou perda de outros genes próximos a ele no cromossomo 17 pode ser um pré-requisito para a presença de LOH em Xq. Estas perdas contribuem para progressão de um estágio bem diferenciado para um mais pobremente

diferenciado, ou para agressividade ou potencial metastático. Os mesmos autores (BERG-BAKKER *et al.*, 1993) descreveram LOH substancial em Xq em carcinomas ovarianos avançados, sugerindo que o mesmo gene está envolvido em diferentes estágios da tumorigênese. Entretanto, a localização da LOH em Xq em carcinomas é diferente da observada em tumores de baixo potencial maligno (LMP). Isto sugere que deve haver dois diferentes genes supressores tumorais no cromossomo X que não estão sujeitos à inativação deste cromossomo, um responsável pela gênese em LMP e outro pela progressão do carcinoma. Esta seria uma explicação para o fato desta aberração ter sido encontrada no presente estudo tanto no teratoma maduro como no caso 4, de adenocarcinoma.

O cromossomo 5 também apresentou-se envolvido em uma alteração estrutural, del(5)(p15) em 2/16 células (12,5%) no caso 2.

Uma deleção no braço curto do cromossomo 5 foi descrita em um carcinoma por BERG-BAKKER *et al.* (1993), del(5)(p12-14), não tendo sido feita nenhuma correlação relevante com os tumores ovarianos.

3. ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS NUMÉRICAS E ESTRUTURAIS OBSERVADAS NOS CARCINOMAS MAMÁRIOS

Neste trabalho foram analisados citogeneticamente cinco carcinomas primários de mama. Nestes, 209 células foram analisadas pelo emprego do bandeamento GTG, das quais 82 (39,23%) apresentaram um cariótipo normal e

127 (60,76%) apresentaram alterações cromossômicas. Das células com alterações, 111 (87,40%) apresentaram alterações cromossômicas clonais. No total, foram observadas 340 aberrações, com uma média de 68 ± 32,16 alterações por tumor, sendo que 207 (60,88%) delas formaram os 45 clones detectados, com freqüências variando desde 15 (7,25% - caso 5) até 88 (42,51% - caso 1) e com uma média de 41,4 ± 28 alterações por tumor.

Excluindo os sete cromossomos marcadores, um total de 200 aberrações cromossômicas clonais foram observadas, envolvendo preferencialmente os cromossomos: 14 (40=20%), 9 (30=15%), 6 (26=13%), 16 (12=6%) e 18 e 21 (11=5,5%). Os cromossomos 1, 2, 4, 5, 7, 10, 11, 12, 13, 17, 19, 20, 22 e X apresentaram freqüências de alterações clonais inferiores a 5% e os cromossomos 3, 8 e 15 não as apresentaram. Estes dados indicam que as aberrações cromossômicas não ocorrem ao acaso em todos os cromossomos do genoma, o que se confirma quando aplicamos aos dados das tabelas 26 e 27 o teste χ^2 que apresentou um valor significante ao nível de 0,001 (χ^2_{22}=258,24). Retirando-se da amostra 9 cromossomos, ou por apresentarem uma maior freqüência de aberrações (14, 9, 6, 16, 18 e 21) ou por não as apresentarem (3, 8 e 15), verificou-se que as mesmas ocorreram ao acaso nos 14 cromossomos restantes (χ^2_{13}=14,80; P>0,30). As alterações numéricas foram muito mais freqüentes que as estruturais (136 e 71, respectivamente) (χ^2_1=20,42; P<0,001) , e entre as numéricas, as monossomias foram mais freqüentes que as trissomias (108 e 28, respectivamente) (χ^2_1=47,06; P<0,001).

As 136 alterações numéricas clonais envolveram principalmente os cromossomos 9 (30=22,06%), 16 (12=8,82%), 18 e 21 (11=8,09%), 19 (9=6,62%), seguidos pelos cromossomos 17 e 22, com freqüências iguais a 5,88% (8 células). Os cromossomos 2, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 20 e X apresentaram freqüências de aberrações numéricas clonais inferiores a 5%, enquanto que as mesmas não foram observadas nos cromossomos 1, 3, 8, 12 e 15.

A análise conjunta das aberrações cromossômicas clonais em 40 carcinomas mamários estudados pelo nosso grupo (CAVALLI, 1994; CORNÉLIO, 1999; WUICIK, 2000 e o presente trabalho) demonstrou que as mesmas ocorreram preferencialmente em 16 diferentes cromossomos (X, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 e 22), o que demonstra a heterogeneidade de ocorrência das aberrações nos cromossomos do genoma, descritas por autores de um mesmo grupo, empregando a mesma metodologia em amostras de uma mesma procedência geográfica. No entanto, observa-se também que em seis (37,50%- X, 14, 17, 18, 19 e 21) destes 16 cromossomos, foram detectadas preferencialmente aberrações clonais em pelo menos dois dos trabalhos citados. Assim, esta recorrência de aberrações clonais preferencialmente descrita em determinados cromossomos é indicativa de que nestes estejam localizados genes de importância na carcinogênese mamária, dos quais devem ser obtidas informações adicionais através de metodologias citogenéticas e moleculares. Neste trabalho, três cromossomos (14, 18 e 21) estiveram entre os seis acima referidos com maior freqüência de aberrações clonais.

As 71 alterações estruturais clonais foram detectadas em todos os carcinomas analisados, sendo que o caso 1 apresentou o maior número destas

alterações (56=78,87%), e as outras alterações estavam distribuídas em 6 (8,45%) no caso 5, quatro (5,63%) no caso 3, três (4,22%) no caso 4 e duas (2,82%) no caso 2. Do total de 71 alterações estruturais clonais, 34 (47,89%) apresentaram o der(14;21)(q10;q10), 18 (25,35%) a +del(6)(q21) e sete (9,86%) cromossomos marcadores. Outras alterações foram detectadas com menor freqüência: três (4,23%) a del(12)(p12) e cada uma das del(1)(p32), del(1)(q24), del(6)(q23) e del(11)(q23) apresentaram duas (2,82%) das alterações estruturais clonais observadas.

O cromossomo 9 foi o mais freqüentemente envolvido em aberrações numéricas clonais nos cinco carcinomas estudados, representando 30 (22,06%) destas aberrações e 14,49% do total de aberrações clonais. A monossomia deste cromossomo ocorreu em 40% dos tumores e esteve presente, dentre as células com alterações, em 14/41 (34,15%) no caso 1 e em 12/32 (37,50%) no caso 2. A trissomia do cromossomo 9 foi observada em 4/22 células (18,18%) no caso 5. Não foram observadas alterações estruturais, envolvendo o cromossomo 9.

O envolvimento do cromossomo 9 em aberrações clonais é pouco descrito em carcinomas primários da mama, tendo sido encontradas alterações em 53 carcinomas estudados (RODGERS *et al.,* 1984; GERBAULT-SEUREAU *et al.,* 1987; DUTRILLAUX *et al.,* 1990; EMERSON *et al.,* 1993; LU *et al.,* 1993; THOMPSON *et al.,* 1993; TRENT *et al.,*1993; GIL-BENSO *et al.,* 1994; PANDIS *et al.,* 1995a), na maioria dos casos, fazendo parte de um cariótipo complexo, como alteração secundária.

A monossomia do cromossomo 9 foi descrita, entre outras alterações, em 9 casos por PANDIS *et al.* (1995a); 8 casos por DUTRILLAUX *et al.* (1990), que também observaram 30% de perdas em 9p; 4 casos por EMERSON *et al.* (1993) e THOMPSON *et al.* (1993), e em 2 casos por GERBAULT-SEUREAU *et al.* (1987). Por estar envolvida em cariótipos complexos, esta monossomia não foi discutida nestes trabalhos, porém DUTRILLAUX *et al.* (1990) chamam atenção sobre os seus resultados, os quais indicam a presença de prováveis genes localizados em 9p, que, em conjunto com a observação de TRENT *et al.* (1993) de 4 tumores metastáticos com perda do cromossomo 9, permite-nos concluir que estes genes estariam envolvidos na progressão tumoral mais do que na iniciação.

A trissomia do cromossomo 9 foi descrita em carcinomas mamários primários por RODGERS *et al.* (1984) em dois casos, por LU *et al.* (1993) em um caso e em cinco casos por CAVALLI *et al.* (1997). TRENT *et al.* (1993) encontraram esta alteração em dois carcinomas metastáticos. No nosso estudo, a trissomia do cromossomo 9 esteve presente em 18,18% das células alteradas de um adenocarcinoma, indicando a sua ocorrência não ao acaso.

O cromossomo 16 foi um dos mais freqüentes nas aberrações numéricas clonais representando 12 (8,82%) destas aberrações e 5,80% do total de aberrações clonais. A monossomia deste cromossomo foi observada em 60% dos tumores analisados e esteve presente, dentre as células com alterações, em 4/41 (9,76%) no caso 1, em 4/18 (22,22%) no caso 3 e em 4/19 (21,05%) no caso 4. Não foram observadas alterações estruturais, envolvendo o cromossomo 16.

A monossomia do cromossomo 16 foi observada por diversos autores: RODGERS *et al.* (1984) encontraram esta alteração em cinco de nove casos estudados; GERBAULT-SEUREAU *et al.* (1987) em quatro dos 12 casos estudados, além de rearranjos estruturais, envolvendo 16q; EMERSON *et al.* (1993) analisando tumores primários e metastáticos, identificaram 4 casos em cada grupo com perda do cromossomo 16; THOMPSON *et al.* (1993) identificaram a monossomia do cromossomo 16 em 5 entre 28 casos de câncer de mama estudados; STEINARSDÓTTIR *et al.* (1995), analisando 29 carcinomas, verificaram que 6 apresentaram esta alteração e PANDIS *et al.* (1995a) descrevem três casos com monossomia do 16.

O cromossomo 16 está presente em uma das alterações mais freqüentes em carcinomas mamários, o der(1;16)(q10;q10), que constitui um importante subgrupo citogenético. PANDIS *et al.* (1992) sugerem que rearranjos, envolvendo o cromossomo 1 e 16, são eventos iniciais na oncogênese mamária. HULTÉN *et al.* (1993) encontraram monossomia ou perda parcial do cromossomo 16 e sugeriram que genes localizados neste cromossomo podem ter relevância na iniciação da transformação maligna do câncer de mama.

O envolvimento do cromossomo 18 foi freqüente nas aberrações numéricas clonais representando 11 (8,09%) destas aberrações e 5,31% do total de aberrações clonais, envolvendo 60% dos tumores analisados. A monossomia deste cromossomo foi observada, dentre as células com alterações, em 4/22 (18,18%) no caso 4. A trissomia do cromossomo 18 foi observada em 4/32 células (12,5%) no caso 2 e em 3/18 células (16,67%) no caso 3.

A monossomia do cromossomo 18 foi identificada em diversos estudos de câncer de mama primário, associada a várias outras aberrações (GERBAULT-SEUREAU *et al.,* 1987; DUTRILLAUX *et al.,* 1990; LU *et al.,* 1993; PANDIS *et al.,* 1993b, 1995a, b, 1998; THOMPSON *et al.,* 1993; TEIXEIRA *et al.,* 1994, 1995; STEINARSDÓTTIR *et al.,* 1995; BURBANO *et al.,* 1996; BERNARDINO *et al.,* 1997, 1998; CAVALLI *et al.,* 1997; CORNÉLIO, 1999), podendo o seu aparecimento estar relacionado à evolução tumoral. ADEYINKA *et al.* (1999b) identificaram a monossomia do cromossomo 18 com o fenótipo metastático, confirmando a sugestão desta aberração estar relacionada à agressividade tumoral.

A trissomia do cromossomo 18 também é encontrada com freqüência em câncer de mama, e caracteriza um subgrupo citogenético de carcinomas mamários (ZHANG *et al.,*1989; BULLERDIEK *et al.,*1993, 1994; PANDIS *et al.,*1993a; TRENT *et al.*, 1993; ROHEN *et al.,*1995; ADEYINKA *et al.,* 1997, 1998; CAVALLI *et al.,* 1997). BULLERDIEK *et al.* (1994), descreveram um carcinoma mamário medular, com 12 células (42,56%), apresentando a trissomia do 18 como a única alteração, estabelecendo esta aberração como a primeira anormalidade citogenética que pode ter um papel na gênese de carcinomas medulares. Além disso, ao contrário da monossomia deste cromossomo, ADEYINKA *et al.* (1999b) indicaram a trissomia do cromossomo 18 como associada a fenótipos tumorais não metastáticos.

O cromossomo 19 foi freqüentemente envolvido em aberrações numéricas clonais, representando nove (6,62%) destas aberrações e 4,35% do total de

aberrações clonais, tendo sido observadas em 40% dos tumores analisados. A monossomia deste cromossomo foi observada, dentre as células com alterações, em 3/32 (9,37%) no caso 2 e em 4/18 (22,22%) no caso 3. A trissomia do cromossomo 19 foi observada em 2/19 células (10,52%) no caso 5. Alterações estruturais deste cromossomo não foram observadas no presente trabalho.

A monossomia do cromossomo 19 foi descrita em vários trabalhos com carcinomas primários de mama (RODGERS *et al.,* 1984; DUTRILLAUX *et al.,* 1990; PANDIS *et al.,* 1993a, 1995a,b, 1998; THOMPSON *et al.,* 1993; TEIXEIRA *et al.,* 1995; STEINARSDÓTTIR *et al.,* 1995; BURBANO *et al.,* 1996; CAVALLI *et al.,* 1997; ADEYINKA *et al.,* 1998; BERNARDINO *et al.,* 1998, CORNÉLIO, 1999), na maioria dos casos, fazendo parte de cariótipos complexos. Porém, a monossomia do cromossomo 19 foi a única aberração clonal de um carcinoma papilar (ADEYINKA *et al.,* 1998) e também de três carcinomas ductais infiltrantes (THOMPSON *et al.,* 1993; STEINARSDÓTTIR *et al.,* 1995; CAVALLI *et al.,* 1997).

CAVALLI *et al.* (1997) encontraram a monossomia do cromossomo 19 em todos os tipos histológicos de tumores mamários por eles analisados, exceto no carcinoma lobular, porém os autores acreditam que esta aberração possa ser resultado do tempo de cultura *in vitro* e/ou da instabilidade causada por hsrs localizadas em 19q.

Por ter sido encontrada como a única anomalia em alguns casos (ADEYINKA *et al.,* 1996, 1998) e pela observação de PANDIS *et al.* (1995a) que admitem que perdas não casuais de 19p e 19q são freqüentemente originadas pelos rearranjos estruturais em câncer de mama, a monossomia do cromossomo 19 é uma aberração que deve ser mais estudada. Reunindo-se todos os achados,

envolvendo este cromossomo, pode-se supor que algum gene supressor tumoral de importância na iniciação da carcinogênese mamária possa estar localizado no cromossomo 19.

O cromossomo 21 esteve envolvido em 11 (8,09%) das aberrações cromossômicas numéricas clonais e 5,31% do total de aberrações clonais. A monossomia deste cromossomo ocorreu em três (60%) dos cinco carcinomas analisados e esteve presente, dentre as células com alterações, em 3/41 (7,32%) nos caso 1, em 3/18 (16,67%) no caso 3 e em 3/22 (13,64%) no caso 4. A trissomia deste cromossomo foi observada clonalmente em 2/22 células (9,09%) no caso 4.

A monossomia do cromossomo 21 foi descrita em 39 carcinomas primários da mama e a trissomia deste cromossomo em 14 casos (DUTRILLAUX *et al.,* 1990; GELEICK *et al.,* 1990; PANDIS *et al.,* 1992, 1995a,b, 1998; BULLERDIEK *et al.,* 1993; LU *et al.,* 1993; THOMPSON *et al.,* 1993; ROHEN *et al.,* 1995; STEINARSDÓTTIR *et al.,* 1995; BURBANO *et al.,* 1996; ADEYINKA *et al.,* 1997; BERNARDINO *et al.,*1998; CAVALLI *et al.,* 1997; CORNÉLIO, 1999).

Em apenas um trabalho, descrevendo citogeneticamente um carcinoma ductal invasor, a monossomia do cromossomo 21 foi descrita como a única aberração clonal (GELEICK *et al.,* 1990) e esteve presente como parte de cariótipos complexos em carcinomas bilaterais (PANDIS *et al.,* 1995b). Nos outros carcinomas esta aberração esteve junto com outras alterações estruturais e/ou numéricas de maior relevância no câncer de mama, o mesmo acontecendo no

presente trabalho, o que torna necessário um estudo do significado desta monossomia nos carcinomas mamários.

O mesmo se observa com relação a trissomia do cromossomo 21, presente em cariótipos complexos e aparentemente sem uma importância fundamental na tumorigênese mamária. Neste trabalho ela foi detectada em dois casos, mas em apenas um deles formou clone.

Além das alterações numéricas, neste trabalho, o cromossomo 21 esteve envolvido na aberração estrutural mais freqüente entre os tumores estudados, o der(14;21)(q10;q10), presente em 34 (82,93%) das 41 células analisadas no caso 1. A alta freqüência desta aberração numa única paciente leva a possibilidade de que a mesma seja uma aberração cromossômica constitucional em mosaico, o que não pode ser comprovado por não ter sido possível localizar a paciente, após o tratamento.

O cromossomo 14 foi o mais alterado nas células estudadas, principalmente por seu envolvimento na aberração estrutural mais freqüente entre os tumores estudados, o der(14;21)(q10;q10), presente em 34 (82,93%) das 41 células analisadas no caso 1.

Como já comentamos na página 151, o braço longo do cromossomo 14 é a região mais freqüentemente descrita com LOH em tumores malignos de tecidos sólidos (COX *et al.,* 1994). O loco da cadeia pesada de imunoglobulina humana está em 14q32 e translocações associadas com câncer, com freqüência, envolvem este loco (McBRIDE *et al.,* 1982). Além disso, O'CONNELL *et al.* (1999), *analisando a LOH em 14q31-32 e o potencial metastático em câncer de mama,*

verificaram um aumento significativo de LOH em tumores primários de mama de pacientes sem envolvimento de linfonodos do que nos pacientes linfonodos positivos, sugerindo que a presença de um gene nesta região esteja envolvida no potencial metastático. Desta forma, a LOH nesta região pode impedir o processo de metástase.

Dentre os cromossomos envolvidos apenas em alterações estruturais clonais está o cromossomo 6, que no caso 1, além das cópias normais deste cromossomo, apresentou +del(6)(q21), em 16/41 células (39,02%), além de del(6)(q23) em 2/41 células (4,88%).

Deleções e LOH, envolvendo o braço longo do cromossomo 6, são alterações freqüentes em câncer de mama e de ovário, além de outros neoplasmas (TRENT *et al.,* 1993; BIÈCHE e LIDEREAU, 1995). Deleções em 6q constituem um subgrupo citogenético em câncer de mama e vários autores descrevem estas alterações em seus estudos (RODGERS *et al.,*1984; FERTI-PASSANTONOPOULOU e PANANI, 1987; GERBAULT-SEUREAU *et al.*, 1987; NIELSEN e BRIAND,1989; DUTRILLAUX *et al.,*1990; GELEICK *et al.,*1990; MITCHELL e SANTIBANEZ-KOREF, 1990; DEVILEE *et al.,*1991; FERTI-PASSANTONOPOULOU *et al.,*1991; HAINSWORTH *et al.,* 1991; EMERSON *et al.,*1993; LU *et al.,*1993; THOMPSON *et al.,*1993; TRENT *et al.,* 1993; DEVILEE e CORNELISSE, 1994; GIL-BENSO *et al.,* 1994; BIÈCHE e LIDEREAU, 1995; HEIM e MITELMAN, 1995; PANDIS *et al.,*1995a,b, 1998; STEINARSDÓTTIR *et al.,*1995; BURBANO *et al.,*1996; CAVALLI *et al.,* 1997; HEIM *et al.,*1997; ZANG *et al.,* 1998).

TRENT *et al.*(1993) observaram deleções em 6q na análise de 34 tumores metastáticos de mama, fornecendo evidências para o primeiro modelo de progressão cariotípica para carcinomas mamários metastáticos. De acordo com esse modelo, o primeiro passo para a progressão tumoral pode estar associado com a alteração de um ou mais genes localizados em um dos cromossomos freqüentemente alterados em câncer de mama (por exemplo, 1p ou 6q), que podem levar a uma instabilidade cromossômica generalizada.

Perdas alélicas em 6q23-25 são de grande interesse devido à localização nesta região do gene do receptor de estrógeno (*ESR1*), cuja expressão está perdida em 30 a 40% dos tumores esporádicos de mama. A extinção da expressão do *ESR* tem conseqüências negativas na evolução da doença e é um sinal claro dos tumores indiferenciados (NOVIELLO *et al.*, 1996).

Além disso, estudos moleculares de alterações do cromossomo 6 em outras malignidades (por exemplo, melanoma) reforçam a sugestão de que no cromossomo 6 localiza-se um gene supressor importante na progressão da malignidade em diversos neoplasmas, incluindo câncer de mama (THOMPSON *et al.,* 1993).

Outros trabalhos descrevem a presença de deleções envolvendo 6q em doenças benignas da mama (DAL CIN *et al.,* 1996; FLETCHER *et al.,* 1991; LEUCHNER *et al.,* 1994). Estas deleções, presentes tanto em tumores benignos como em carcinomas, sugerem a presença em 6q de genes envolvidos nos estágios iniciais da tumorigênese mamária. Mais especificamente, a região 6q21-25 é a provável localização de mais de um gene que contribui para diferentes passos na tumorigênese humana, considerando a alta freqüência e

heterogeneidade desta deleção em diferentes tumores, além dos mamários (MITELMAN, 1994).

Os cromossomos acima referidos são os que apresentaram maiores freqüências de aberrações cromossômicas detectadas neste trabalho. No entanto, outros cromossomos são freqüentemente descritos em carcinomas mamários e serão mencionados em seguida.

Alterações estruturais clonais foram observadas no cromossomo 1 em dois casos. No caso 3, foi identificada del(1)(p32) em 2/18 células (11,11%) e no caso 5, a del(1)(q42) em 3/19 células (15,79%).

O cromossomo 1 apresenta aberrações em aproximadamente 80% dos carcinomas mamários estudados (HAINSWORTH e GARSON, 1990), sendo o cromossomo mais comumente envolvido nas alterações observadas nestes carcinomas (RODGERS *et al.,* 1984; TRENT, 1985b; GEBHART *et al.,*1986; GERBAULT-SEUREAU *et al.*, 1987; HILL, 1987; ZHANG *et al.,* 1989; MITCHELL e SANTIBANEZ-KOREF, 1990; DUTRILLAUX *et al.,* 1990; HAINSWORTH *et al.,*1991; PANDIS *et al.,* 1992, 1993, 1994b, 1995a,b, 1998; EMERSON *et al.,* 1993; HULTÉN *et al.,* 1993; KOKALJ-VOKAC *et al.,* 1993; LU *et al.,*1993; THOMPSON *et al.,* 1993; TRENT, 1993; GIL-BENSO *et al.,* 1994; KALLIONIEMI *et al.,* 1994; MITELMAN, 1994; HEIM e MITELMAN, 1995; RIED *et al.,* 1995; TEIXEIRA *et al.,* 1996a, ADEYINKA *et al.,* 1998; RAGNARSSON *et al.,* 1999).

A maioria dos trabalhos descrevem de alguma forma ganhos em 1q [der(1;16)(q10;q10), i(1)(q10)] (PANDIS *et al.,* 1992), porém alguns autores também relatam a perda de material em 1q (FERTI-PASSANTONOPOULOU e

PANANI, 1987; HAINSWORTH *et al.,* 1991; LU *et al.,* 1993; TRENT *et al.,* 1993; PANDIS *et al.,* 1995a, b, 1998; TEIXEIRA *et al.,* 1996a, CAVALLI *et al.,* 1997). Deleções em 1q11-12 e 1q42 constituem dois subgrupos citogenéticos importantes no estudo de carcinomas mamários (PANDIS *et al.,* 1995a). É difícil visualizar um modelo de carcinogênese que explique ganhos e perdas de 1q num mesmo tumor, porém PANDIS *et al.* (1995a) acreditam que tais alterações antagônicas ocorrem em subpopulações diferentes de células tumorais da mama. O efeito patogenético da del(1)(q42) é desconhecido, porém é possível que ocorra a perda de um gene supressor tumoral nesta região (TEIXEIRA *et al.,* 1996a).

Alterações no cromossomo 11 representaram 8 (3,86%) do total de aberrações clonais e estavam presentes em 60% dos tumores analisados. A monossomia do cromossomo 11 foi observada, dentre as células com alterações, em 3/41 células (7,32%) no caso 1 e em 3/32 (9,37%) no caso 2. Dentre as alterações estruturais, observou-se del(11)(q23) em 3 casos (2, 3 e 4), sendo clonal apenas no caso 3, em 2/18 células (11,11%).

A monossomia do cromossomo 11 foi observada em 40 casos de 237 estudados (RODGERS *et al.,* 1984; GERBAULT-SEUREAU *et al.,* 1987; DUTRILLAUX *et al.,* 1990; MITCHELL e SANTIBANEZ-KOREF, 1990; EMERSON *et al.,* 1993; MULERIS *et al.,* 1994; PANDIS *et al.,* 1995a; STEINARSDÓTTIR *et al.,* 1995; TEIXEIRA *et al.,* 1997). Esta alteração deve exercer o mesmo efeito que as deleções parciais na inativação de genes supressores tumorais.

As alterações estruturais envolvendo o cromossomo 11 são freqüentes nos tumores mamários (GERBAULT-SEUREAU *et al.,* 1987; HILL *et al.,* 1987;

DUTRILLAUX *et al.,* 1990; FERTI-PASSANTONOPOULOU *et al.,* 1991; HAINSWORTH *et al.,* 1991; GARCIA-PALAZZO *et al.*, 1992; TAKITA *et al.,* 1992; EMERSON *et al.,* 1993; LU *et al.,* 1993; PANDIS *et al.*, 1993, 1995a, 1998; THOMPSON *et al.*, 1993; TRENT *et al.,* 1993; MULERIS *et al.*, 1994; STEINARSDÓTTIR *et al.,* 1995; ADEYINKA *et al.*, 1996; CAVALLI *et al.*, 1997; TEIXEIRA *et al.,* 1997, 1998; BERNARDINO *et al.*, 1998). HAINSWORTH *et al.* (1991) analisaram 26 carcinomas primários de mama e encontraram rearranjos estruturais, envolvendo o cromossomo 11 em 11 casos (42,30%). Estas alterações envolveram tanto braço curto como braço longo. No braço curto são mais freqüentes as aberrações com ponto de quebra em 11p15, onde se localiza o oncogene *HRAS*. No braço longo, em 11q13 já foram mapeados os genes *FGF3*, *FGF4*, que codificam para fatores de crescimento de fibroblastos, além de outros 3 genes: *GSTP1, EMS1* e *CCND1*. Neste braço, em 11q15 está localizado o gene *WT2* e em 11q23 os genes *MLL* e *INT.* A LOH em 11q23, tanto isolada como associada a LOH em 11p15.5 em tumores mamários, é considerada como indicativo de evolução para doença pós-metastática agressiva com sobrevida reduzida (WINQVIST *et al.,* 1995).

Outro cromossomo envolvido nas aberrações estruturais clonais foi o cromossomo 12, que se apresentou deletado, del(12)(p12), em três dos cinco carcinomas estudados, formando clone apenas em um deles, no caso 4, em 3/22 células (13,64%).

Alterações estruturais envolvendo o braço curto do cromossomo 12 são freqüentes em tumores mamários benignos (CORNÉLIO, 1999), e em diversos

estudos foram observadas em carcinomas mamários (RODGERS *et al.,* 1984; GERBAULT-SEUREAU *et al.,* 1987; DUTRILLAUX *et al.,* 1990; MITCHELL e SANTIBANEZ-KOREF, 1990; HAINSWORTH *et al.,* 1991; BULLERDIEK *et al.,* 1993; EMERSON *et al.,* 1993; LU *et al.,* 1993; TRENT *et al.,* 1993; MULERIS *et al.,* 1994; PANDIS *et al.,* 1995a, 1998; ROHEN *et al.,* 1995; STEINARSDÓTTIR *et al.,* 1995; TEIXEIRA *et al.,* 1996a, 1997, 1998; ADEYINKA *et al.,* 1997, 1998; BERNARDINO *et al.,* 1998; CORNÉLIO, 1999). Estas alterações foram sempre encontradas em cariótipos com outras alterações, sugerindo o envolvimento do braço curto do cromossomo 12 na evolução tumoral.

Aberrações numéricas clonais do cromossomo 17 representaram 8 (5,88%) destas aberrações e foram observadas em 40% dos tumores analisados. A monossomia do cromossomo 17 foi detectada, dentre as células com alterações, em 5/32 (15,62%) no caso 2 e em 3/18 (16,67%) no caso 3.

A monossomia do cromossomo 17 foi identificada por diversos autores, tanto em tumores primários como em metástases de mama (RODGERS *et al.,* 1984; DUTRILLAUX *et al.,* 1990; GELEICK *et al.,* 1990; MITCHELL e SANTIBANEZ-KOREF, 1990; EMERSON *et al.,* 1993; LU *et al.,* 1993; THOMPSON *et al.,* 1993; TRENT *et al.,* 1993; PANDIS *et al.,* 1995a; 1998; STEINARSDÓTTIR *et al.,* 1995; BURBANO *et al.,* 1996; CAVALLI *et al.,* 1997; CORNÉLIO, 1999).

STEINARSDÓTTIR *et al.* (1995) analisaram 85 carcinomas mamários e cerca de 40% dos casos anormais tinham alterações no cromossomo 17, principalmente perda total do cromossomo (em cinco casos) ou parcial em 17p. O

mesmo havia sido observado por MITCHELL e SANTIBANEZ-KOREF (1990), que analisando 14 carcinomas primários de mama, identificaram alterações no cromossomo 17 em seis tumores: dois com del(17)(p11), dois com del(17)(p12) e dois com monossomia deste cromossomo.

A monossomia do cromossomo 17 é encontrada quase sempre em cariótipos complexos, o que sugere ser esta uma aberração secundária nos carcinomas mamários (PANDIS *et al.,* 1995a). Sendo uma alteração que já foi observada tanto em doenças benignas da mama, como em carcinomas e metástases mamárias, supõem-se que seja importante no processo de progressão tumoral.

No cromossomo 17 localizam-se vários proto-oncogenes e genes supressores tumorais, incluindo *TP53, BRCA1, RARA, ERBB2* entre outros, indicando a sua importância na carcinogênese e progressão de diversos tumores. LOH do gene *TP53*, localizado em 17p13.1, é a mutação mais comum nos cânceres humanos (COX *et al.,* 1994), sendo encontrada em 40 a 50% destes (DiCIOCCIO *et al.,* 1998). Este gene supressor tumoral normalmente age no controle da proliferação celular, tendo a expressão aumentada quando ocorre dano ao DNA. Uma correlação entre as mutações em *TP53* e tumores de estágio avançado foi descrita por diversos autores, indicando que estas mutações podem ser um evento tardio que contribui na progressão tumoral (BIÈCHE e LIDEREAU, 1995).

Outro cromossomo envolvido em aberrações numéricas clonais foi o cromossomo 22, representando 8 (5,88%) destas aberrações, estando presente

em 40% dos carcinomas mamários. A monossomia deste cromossomo foi observada, dentre as células com alterações, em 5/41 (12,19%) no caso 1 e em 3/19 (15,79%) no caso 5.

A monossomia do cromossomo 22, bem como perdas alélicas no braço longo deste cromossomo, são freqüentemente observadas em meningiomas e carcinomas de cólon, ovário e mama (IIDA *et al.,* 1998). A monossomia do cromossomo 22 foi descrita em outros 68 tumores primários de mama (RODGERS *et al.,* 1984; DUTRILLAUX *et al.,* 1990; HAINSWORTH *et al.,* 1991; PANDIS *et al.,* 1993a, b, 1995a, 1998; LU *et al.,* 1993; THOMPSON *et al.,* 1993; TEIXEIRA *et al.,* 1994, 1996a, 1997; STEINARSDÓTTIR *et al.,* 1995; CAVALLI *et al.,* 1997; ADEYINKA *et al.,* 1998; BERNARDINO *et al.,* 1998; CORNÉLIO, 1999; WUICIK,2000).

A monossomia do cromossomo 22 é apontada como uma anomalia secundária na carcinogênese mamária por ser raramente encontrada como anomalia única (PANDIS *et al.,* 1995a). Esta aberração foi observada em todos os tipos histológicos de tumores mamários analisados por CAVALLI *et al.* (1997), exceto no lobular, e foi encontrada em 50% da série descrita por BERNARDINO *et al.* (1998).

IIDA *et al.* (1998) encontraram LOH para pelo menos um loco em 22q em 56 carcinomas primários de mama, levantando a possibilidade de um ou mais genes supressores tumorais associados ao câncer de mama estarem presentes em 22q.

Além disso, PANDIS *et al.* (1998) indicaram a monossomia parcial ou total do cromossomo 22 como uma aberração que parece ocorrer muito mais

freqüentemente em câncer de mama metastático do que no primário. Neste mesmo trabalho, observou-se que esta aberração ocorreu tanto no tumor primário quanto em suas metástases de linfonodo, sugerindo que ela possa ter uma função importante no estabelecimento das metástases, considerando que esta perda foi encontrada pelo mesmo grupo (PANDIS *et al.,* 1995a) em torno de 10% de carcinomas mamários não selecionados. Esta é uma freqüência baixa, quando comparada ao aparecimento desta aberração em 63,64% dos carcinomas que têm envolvimento do linfonodo.

A monossomia do cromossomo X esteve presente entre as aberrações numéricas clonais em um dos tumores analisados, em 4/32 (12,5%) células no caso 2.

A monossomia do cromossomo X é uma das alterações mais freqüentes nos tumores mamários (RODGERS *et al.,* 1984; DUTRILLAUX *et al.,* 1990; HAINSWORTH *et al.,* 1991; BULLERDIEK *et al.,* 1993; PANDIS *et al.,* 1993a, 1995a, 1995b; THOMPSON *et al.,* 1993; TRENT *et al.,* 1993; MULERIS *et al.,* 1994; TEIXEIRA *et al.,* 1994, 1997; LOUPART *et al.,* 1995; ROHEN *et al.,* 1995; STEINARSDÓTTIR *et al.,* 1995; BURBANO *et al.,* 1996; CAVALLI *et al.,* 1997; ADEYINKA *et al.,* 1998; BERNARDINO *et al.,* 1998; HERMSEN *et al.,* 1998; CORNÉLIO, 1999).

CAVALLI *et al.* (1997) identificaram a monossomia do cromossomo X em 9 carcinomas de mama de um total de 20 analisados (45%). Igualmente alta foi a freqüência desta aberração nos tumores analisados por PANDIS *et al.* (1995a), estando presente em 11 (13,92%) de 79 casos estudados. Estes autores

concluiram que a monossomia do cromossomo X não ocorreu ao acaso e que, por não aparecer isoladamente em nenhum dos casos, seria uma alteração secundária.

LOUPART *et al.* (1995) analisaram LOH e deleção em X, envolvendo também a região pseudoautossômica humana (PAR), que é uma zona de seqüências estritamente homólogas nas terminações dos braços curtos dos cromossomos sexuais (Xp22.3 e Yp11.3), em tumores de mama. Estes autores descreveram uma alta freqüência de pequenas deleções, definindo pelo menos três regiões independentes: duas porções distais em Xp, envolvendo uma região pseudoautossômica e uma região distal em Xq, sugerindo a presença de genes supressores envolvidos no câncer de mama, nestes sítios.

Finalmente, comparando os resultados obtidos na análise dos carcinomas mamários e de ovário, verificamos que as aberrações estruturais clonais (71 e 13, respectivamente) e numéricas clonais (136 e 102, respectivamente) não se distribuíram ao acaso nos dois tipos de carcinomas (χ^2_1= 20,27; P<0,001). A diferença foi devida principalmente às aberrações estruturais que apresentaram um valor de χ^2 parcial igual a 14,98.

Já as monossomias e trissomias clonais estiveram igualmente distribuídas nos carcinomas mamários (108 e 28, respectivamente) e de ovário (77 e 25, respectivamente) (χ^2_1= 0,52; P>0,30).

Os cromossomos que apresentaram maiores freqüências de aberrações clonais foram 14, 9, 6, 16, 18 e 21 nos carcinomas mamários e 18, 17, 16, 20 e 21 nos de ovário, com ocorrência comum nos dois tipos de carcinomas dos cromossomos 16 e 18. Informações adicionais devem ser obtidas para que se possa avaliar o real significado destes resultados.

VI. CONCLUSÕES

1. Dos quatro carcinomas ovarianos apresentados neste estudo, 3 (75%) apresentaram-se aneuplóides, confirmando os dados da literatura que apresentam de 52% a 83% de aneuploidia para os cânceres ovarianos, enquanto que o teratoma benigno apresentou-se diplóide, favorecendo a sugestão de que a aneuploidia seria uma característica de malignidade. Desta forma, o estudo da ploidia se apresenta como uma informação adicional, auxiliando na caracterização tumoral.

2. No estudo do teratoma maduro apresentado neste trabalho, obtivemos resultados novos em relação aos apresentados na literatura. Identificamos diversas aberrações cromossômicas, entre monossomias, trissomias e alterações estruturais. Na literatura, 93% dos teratomas maduros apresentam cariótipo normal, sendo que os 7% com alterações apresentam apenas aberrações numéricas e um cromossomo marcador. Os nossos dados são sugestivos de que teratomas maduros podem apresentar alterações mais freqüentemente do que vem sendo descrito, ou até mesmo indicar um aumento na probabilidade de malignização destes tumores benignos, até então considerados sem potencial para transformação maligna.

3. As perdas cromossômicas (deleções e monossomias) foram mais freqüentes que os ganhos (trissomias) tanto nos carcinomas ovarianos como nos mamários. Isto sugere a presença de genes supressores tumorais, atuando no processo de iniciação e progressão tumoral.

4. Comparando as freqüências de aberrações estruturais e numéricas clonais nos carcinomas mamários e ovarianos, verificou-se que as mesmas não se distribuíram ao acaso nos dois tipos de carcinomas (χ^2_1= 20,27; P<0,001), sendo que a diferença foi devida principalmente às aberrações estruturais que apresentaram um valor de χ^2 parcial igual a 14,98, sugerindo que estas desempenhem um papel importante no processo de malignização.

5. Tanto para as alterações numéricas como para as estruturais identificadas neste trabalho, encontramos achados semelhantes na literatura, inclusive de mesmos pontos de quebra, reforçando a sugestão do envolvimento preferencial de determinados cromossomos nos processos de proliferação celular e transformação maligna em mama e ovário. Além disso, foi possível correlacionar estes pontos de quebra com genes já identificados nas mesmas regiões cromossômicas.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEYINKA, A.; PANDIS, N.; NILSSON, J. *et al.* Different cytogenetic patterns in skeletal breast cancer metastases. **Genes, Chromosomes & Cancer,** v.16, p.72-76, 1996.

ADEYINKA, A.; PANDIS, N.; BARDI, G. *et al.*. A subgroup of breast carcinomas is cytogenetically characterized by trisomy 12. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.97, p.119-121, 1997.

ADEYINKA, A.; MERTENS, F.; IDVALL, I. *et al.* Cytogenetic findings in invasive breast carcinomas with prognostically favourable histology: a less complex katyotypic pattern? **Int. J. Cancer,** v.79, p.361-364, 1998.

ADEYINKA, A.; MERTENS, F.; IDVALL, I. *et al.* Multiple polysomies in breast carcinomas: preferential gain of chromosomes 1, 5, 6, 7, 12, 16, 17, 18, and 19. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.111, p.144-148, 1999a.

ADEYINKA, A.; MERTENS, F.; IDVALL, I. *et al.* Different patterns of chromosomal imbalances in metastasising and non-metastasising primary breast carcinomas. **Int. J. Cancer,** 84(4), p.370-375, 1999b.

ARCURI, R. A.; ALVES, E. C.; CASTRO, A. A. Patologia do Câncer de Mama, p.157-165, in: Mastologia - Formação do Especialista, 1ª ed., 1997.

ARNOLD, N.; HÄGELE, L.; WALZ, L. *et al.* Overrepresentation of 3q and 8q material and loss of 18q material are recurrent findings in advanced human ovarian cancer. **Genes, Chromosomes & Cancer,** v.16, p.46-54, 1996.

ATKIN, N. B.; BAKER, M. C. Chromosome 7q deletions: observations on 13 malignant tumors. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.67, p.123-125, 1993.

BANDERA, C.A.; TAKAHASHI, H.; BEHBAKHT, K. *et al.* Deletion Mapping of Two Potential Chromosome 14 Tumor Suppressor Gene Loci in Ovarian Carcinoma. **Cancer Research**, v.57, p.513-515, 1997.

BEIGUELMAN, B. **Curso Prático de Bioestatística**. Revista Brasileira de Genética. Ribeirão Preto, SP, 1988.

BERCHUCK, A.; OLT, G. J.; EVERITT, L. *et al.* The role of peptide growth factors in epithelial ovarian cancer. **Obstet. Gynecol.**, v.75, p.255-262, 1990.

BERCHUCK, A.; RODRIGUEZ, G. C.; OLT, G. J. *et al.* Regulation of growth of normal ovarian epithelial cells and ovarian cancer cell lines by transforming growth factor-beta. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v.166, p.676-684, 1991.

BERCHUCK, A.; KOHLER, M. F.; BOENTE, M. P. *et al.* Growth regulation and transformation of ovarian epithelium. **Cancer Supp.**, v.71, No.2, p.545-551, 1992.

BERG-BAKKER, C. A. M.; HAGEMEIJER, A.; FRANKEN-POSTMA, E. M. *et al.* Establishment and characterization of 7 ovarian carcinoma cell lines and one granulosa tumor cell line: growth features and cytogenetics. **Int. J. Cancer**, v.53, p.613-620, 1993.

BERNARDINO, J.; GERBAULT-SEUREAU, M.; SASTRE, X. *et al.* Unusual clonal chromosomal evolution in a breast carcinoma and its lymph node metastasis in a patient with Down Syndrome. **Genes Chromosomes & Cancer**, v.19, p.195-199, 1997.

BERNARDINO, J.; APIOU, F.; GERBAULT-SEUREAU, M. *et al.* Characterization of recurrent homogeneously staining regions in 72 breast carcinomas. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.23, p.100-108, 1998.

BIÈCHE, I.; CHAMPÈME, M. H.; LIDEREAU, R. Loss and gain of distinct regions of chromosome 1q in primary breast cancer. **Clin. Cancer Res.**, v.1, p.123-127, 1995.

BIÈCHE, I.; LIDEREAU, R. Genetic alterations in breast cancer. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.14, p.227-251, 1995.

BOGLIOLO, L.; LOPES, E.R.; CHAPADEIRO, E. *et al.* Sistema Genital Feminino, p.434-442, in Patologia, 4ª.ed., 1987.

BRESCIA, R. J.; BARAKAT, R. A.; BELLER, U. *et al.* The Prognostic Significance of Nuclear DNA Content in Malignant Epithelial Tumors of the Ovary. **Cancer**, v.65, p.141-147, 1990.

BROCK, J. A. K.; LIU, W. H.; SMITH, T. *et al.* Detection of numerical chromosome anomalies in interphase cells of ovarian carcinomas using fluorescence in situ hybridization. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.16, p.120-129, 1996.

BUCHHAGEN, D. L.; QIU, L.; ETKIND, P. *et al.* Homozygous deletion, rearrangement and hypermethylation implicate chromosome region 3p14.3-3p21.3 in sporadic breast-cancer development. **Int. J. Cancer**, v.57, p.473-479, 1994.

BULLERDIEK, J.; LEUSCHNER, E.; TAQUIA, E. *et al.* Trisomy 8 as a recurrent clonal abnormality in breast cancer? **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.65, p.64-67, 1993.

BULLERDIEK, J.; BONK, U.; STAATS, B. *et al.* Trisomy 18 as the first chromosome abnormality in a medullary breast cancer. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v73, p.75-78, 1994.

BURBANO, R. R.; NETO, J. B.; PHILBERT, P. M. P. *et al.*. Cytogenetic analysis of breast carcinoma. **Braz. J. Genet**., v.19, p.137-143, 1996.

CADUFF, R. F.; SVOBODA-NEWMAN, S. M.; FERGUSON, A. W. *et al.* Comparison of alterations of chromosome 17 in carcinoma of the ovary and the breast. **Virchows Arch,** v.434(6), p.517-522, 1999.

CASPERSSON, T.; FARKER, S.; FOLEY, G. E. *et al.* Chemical differentiation along metaphase chromosomes. **Exp. Cell Res.,** v.49, p.219-222, 1968.

CASPERSSON, T.; ZECH, L.; JOHANSON, C. Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosome. **Exp. Cell Res.,** v.60, p.315-319, 1970a.

CASPERSSON, T.; ZECH, L.; JOHANSON, C. Analysis of the human metaphase chromosome set by aid of DNA-binding fluorescent agents. **Exp. Cell Res.,** v.62, p.490-492, 1970b.

CASPERSSON, T.; ZECH, L.; JOHANSON, C. Quinacrine mustard-fluorescence of human chromosomes 4, 5 e X. **Exp. Cell Res.,** v.61, p.474-476, 1970c.

CASPERSSON, T.; ZECH, L.; JOHANSON, C. *et al.* Identification of the human chromosome by DNA-binding fluorescent agents. **Chromosoma,** v.60, p.215-227, 1970d.

CASPERSSON, T.; ZECH, L.; JOHANSON, C. *et al.* Fluorescent staining of heteropycnotic chromosome regions in human interphase nuclei. **Exp. Cell Res.,** v.61, p.472-474, 1970e.

CAVALLI, L. R. Estudo Citogenético em Tumores Primários de Mama. Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal do Paraná, para obtenção do grau de mestre, 1994.

CAVALLI, L.R.; CAVALIÉRI, M.B.; RIBEIRO, L.A. *et al.* Cytogenetic evaluation of 20 primary breast carcinomas. **Hereditas**, v.126, p.161-168, 1997.

CHEN, L. C.; MATSUMURA, K.; DENG, G. *et al.* Deletion of two separate regions on chromosome 3p in breast cancers. **Cancer Res.,** v.54, p.3021-3024, 1994.

CHENEVIX-TRENCH, G.; KERR, J.; HURST, T. *et al.* Analysis of loss of heterozygosity and K-ras mutations and in ovarian neoplasms: Clinical pathological correlations. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.18, p.75-83, 1997.

CHENG, P. C.; GOSEWEHR, J. A.; KIM, T. M. *et al.* Potential role of inactivated X chromosome in ovarian epithelial tumor development. **J. Natl. Cancer Inst.**, v.88, p.510-518, 1996.

CHOI, C.; CHO, S.; HORIKAWA, I. *et al.* Loss of heterozygosity at chromosome segment Xq25-26.1 in advanced human ovarian carcinomas. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.20, p.234-242, 1997.

COOKE, I. E.; SHELLING, A. N.; MEUTH, V. G. *et al.* Allele loss on chromosome arm 6q and fine mapping of the region at 6q27 in epithelial ovarian cancer. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.15, p.223-233, 1996.

CORNÉLIO, D. A. Estudo Citogenético em Lesões Benignas e Malignas da Mama Humana. Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal do Paraná, para obtenção do grau de mestre, 1999.

COX, L.A.; CHEN, G.; LEE, E.P. Tumor supressor genes and their roles in breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment,** v.32, p.19-38, 1994.

CRUCIGER, Q.; PATHAK, S.; CAILLEAU, R. Human breast carcinomas: marker chromosomes involving 1q in seven cases. **Cytogenet. Cell Genet.,** v.17, p.231-235, 1976. Abstract.

DAL CIN, P.; MOERMAN, P.; CHRISTIAENS, M. R. *et al.* Observation of a Deletion of the Long Arm of Chromosome 6 in Benign Fibrocystic Disease of the Breast Constitutes a Challenging Problem. **Genes, Chromosomes & Cancer,** v.16, p.68-71, 1996.

DASGUPTA, J. D.; CEMACH, K.; DUBEY, D. P. *et al.* The role of class I histocompatibility antigens in the regulation of T-cell activation. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.84, p.1094-1098, 1987.

DEGER, R. B.; FARUQI, S. A.; NOUMOFF, J. S. Karyotypic analysis of 32 malignant epithelial ovarian tumors. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.96, p.166-173, 1997.

DEVILEE, P.; VAN VLIET, M.; VAN SLOUND, P. *et al.* Allelotype of human breast carcinoma: a second major site for loss of heterozygosity is on chromosome 6q. **Oncogene,**v.6,p.1705-1711,1991.

DEVILEE, P.; CORNELISSE, C. J. Somatic genetic changes in human breast cancer. **Biochimica et Biophysica Acta,** v.1198, p.113-130, 1994.

DiCIOCCIO, R. A.; BRUCE, A. W.; PENG, R. *et al.* Correlation of TP53 mutations and p53 expression in ovarian tumors. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.105, p.93-102, 1998.

DIEBOLD, J.; DEISENHOFER, I.; BARETTON, G. B. *et al.* Interphase cytogenetic analysis of serous ovarian tumors of low malignant potential: comparison with

serous cystoadenomas and invasive serous carcinomas. **Laboratory Investigation**, v.75, n.4, p.473-485, 1996.

DiFIORE, P. P.; PIERCE, J. H.; KRAUS, M. H. *et al.* *Erb*B-2 is a potent oncogene when overexpressed in NIH/3T3 cells. **Science,** v.237, p.178-182, 1987.

DUTRILLAUX, B.; GERBAULT-SEUREAU, M.; ZAFRANI, B.. Characterization of chromosomal anomalies in human breast cancer. A comparison of 30 paradiploid cases with few chromosome changes. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.49, p.203-217, 1990.

DUTRILLAUX, B.; GERBAULT-SEUREAU, M.; REMVIKOS, Y. *et al.* Breast cancer genetic evolution: I. Data from cytogenetics and DNA content. **Breast Cancer Res. Treat.**, v.19, p.245-255, 1991.

ECHTEN, J.; DOORN, L. C.; LINDEN, H. C. *et al.* Cytogenetics of a malignant ovarian germ-cell tumor. **Int. J. Cancer**, v.77, p.217-218, 1998.

ELBENDARY, A. A.; BERCHUCK, A.; BAST JR., R. C. Biology of epithelial ovarian cancer, p.20-35, in: Epithelial Cancer of the Ovary, 1st Ed., Lawton, F. G.; Neijt, J. P., Swenerton, K. D., 1995.

EMERSON, J.; SALMON, S. E.; DALTON, W. *et al.* Cytogenetics and clinical correlations in breast cancer. **Advances Medicine of Biology,** v.330, p.107-118, 1993.

FERTI-PASSANTONOPOULOU, A.; PANANI, A. D. Common cytogenetic findings in primary breast cancer. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.27, p.289-298, 1987.

FERTI-PASSANTONOPOULOU, A.; PANANI, A.D.; RAPTIS, S. Preferential involvement of 11q23-24 and 11p15 in breast cancer. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.51, p.183-188, 1991.

FLETCHER, J. A.; PINKUS, G. S.; WEIDNER, N. *et al.* Lineage restricted clonality in biphasic solid tumors. **Am. J. Pathol.**, v.138, p.1199-1207, 1991.

FUTREAL, P. A.; SHATTUCK-EIDENS, D.; COCHRAN, C. *et al.* BRCA1 mutations in primary breast and ovarian carcinomas. **Science,** v.266, p.120-122, 1994.

GALLION, H. H.; PIERETTI, M.; DEPRIEST, P. D. *et al.* The molecular basis of ovarian cancer. **Cancer Supp.**, v.76, p.1992-1997, 1995.

GARCIA-PALAZZO, I. E.; PALAZZO, J. P.; LIU, M. Z. *et al.* Cytogenetic findings in a breast stromal sarcoma. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.63, p.47-51, 1992.

GELEICK, D.; MÜLLER, H.; MATTER, A. *et al.*. Cytogenetics of breast cancer. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.46, p.217-229, 1990.

GERBAULT-SEUREAU, M.; VIELH, P.; ZAFRANI, B. *et al.* Cytogenetic study of twelve human near-diploid breast cancers with chromosomal changes. **Ann. Genetic**, v.30, p.138-144, 1987.

GEBHART, E.; BRUDERLEIN, S.; AUGUSTUS, M. *et al.* Cytogenetic studies on human breast carcinomas, **Breast Cancer Res. Treat.**, v.8, p.125-138, 1986.

GIBAS, L. M.; GIBAS, Z.; SANDBERG, A. A. Technical aspects of cytogenetic analysis of human solid tumors. **Karyograun,** v.10, p.25-27, 1984.

GIBAS, Z.; TALERMAN, A.; FARUQI, S. *et al.* Cytogenetic Analysis of an Immature Teratoma of the Ovary and Its Metastasis After Chemotherapy-Induced Maturation. **Int. J. Gynecol. Pathol.**, v.12, p.276-280, 1993.

GIL-BENSO, R.; LÓPEZ-GINÉS, C.; SORIANO, P. *et al.* Cytogenetic study of angiosarcoma of the breast. **Genes, Chromosomes & Cancer,** v.10, p.210-212, 1994.

GODWIN, A. K.; TESTA, J. R.; HAMILTON, T. C. The biology of ovarian cancer development. . **Cancer Supp.**, v.71, N°.2, p.531-536, 1993.

GÓRSKI, G. K.; McMORROW, L. E.; BLUMSTEIN, L. *et al.* Trisomy 14 in Two Cases of Granulosa Cell Tumor of the Ovary. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.60, p.202-205, 1992.

HAINSWORTH, P. J.; GARSON, O. M. Breast Cancer Cytogenetics and Beyond. **Aust. New Z. J. of Surg.,** v.60, p.327-336, 1990.

HAINSWORTH, P.J.; RAPHAEL, K.L.; STILLWELL, R.G. *et al.* Cytogenetic features of twenty-six primary breast cancers. **Cancer Genet. Cytogenet** v.52, p.205-218, 1991.

HANSON, J. A.; PARRY, E. M.; GIBBS, A. R. *et al.* Characterization of highly radiosensitive cell lines from a human ovarian small-cell cancer. **Gynecologic Oncology**, v.67, p.147-153, 1997.

HEDLEY, D.W.; CLARK G. M.; CORNELISSE, C. J. *et al.* **Cytometry**. V.14, p.482-485, 1993.

HEIM, S.; MITELMAN, F. Cancer Cytogenetics, 2nd ed., New York: Wiley-Liss, 1995.

HEIM, S.; TEIXEIRA, M. R.; DIETRICH, C. U. *et al.* Cytogenetic polyclonality in tumors of breast. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.95, p.16-19, 1997.

HERMSEN, M. A.; BAAK, J. P. A.; MEIJER, G. A. *et al.* Genetic analysis of 53 lymph node-negative breast carcinomas by CGH and relation to clinical, pathological, morphometric, and DNA cytometric prognostic factors. **Journal of Pathology**, v.186, p.356-362, 1998.

HILL, S. M., RODGERS, C. S.; HULTÉN, M. A. Cytogenetic analysis in human breast carcinoma. II. Seven cases in the triploid/tetraploid range investigated using direct preparations. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.24, p.45-62, 1987.

HULTÉN, M.A.; HILL, S. M.; RODGERS, C. S. Chromosomes 1 and 16 in sporadic breast cancer. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.8, p.204, 1993.

IHARA T.; OHAMA, K.; SATOH, H. *et al.* Histologic grade and karyotype of immature teratoma of the ovary. **Cancer**, v.54, p.2988-2994, 1983.

IIDA, A.; KUROSE, K.; ISOBE, R. *et al.* Mapping of new target region of allelic loss to a 2 cM interval at 22q13.1 in primary breast cancer. **Genes, Chromosomes & Cancer,** v.21(2), p.108-112, 1998.

ISCN (1995): An International System for Human Cytogenetics Nomenclature, F. Mitelman, ed. S. Karger, Basel.

JENKINS, R. B.; BARTELT, D.; STALBOERGER, P. *et al.* Cytogenetic studies of epithelial ovarian carcinoma. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.71, p.76-86, 1993.

JENKYN, D. J.; McCARTNEY, A. J. A chromosome study of three ovarian tumors. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.26, p.327-337, 1987.

JOHANSSON, B.; BARDI, G.; HEIM, S. *et al.* Nonrandom chromosomal rearrangements in pancreatic carcinomas. **Cancer**, v.69, p.1674-1681, 1992.

KALLIONIEMI A.; KALLIONIEMI, O. P.; PIPER, J. *et al.* Detection and mapping of amplified DNA sequences in breast cancer by comparative genomic hybridization. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA,** v.91, p.2156-2160, 1994.

KAWAUCHI, S.; TSUJI, T.; KAKU, T. *et al.* Sclerosing stromal tumor of the ovary. **Am.J.Surgical Pathology**, v.22(1), p.83-92, 1998.

KERE, J.; DONIS-KELLER, H.; RUUTU, T. *et al.* Chromosome 7 long-arm deletions in myeloid disorders: Terminal DNA sequences are commonly conserved and breakpoints vary. **Cytogenet. Cell Genet.**, v.50, p.226-229, 1989.

KIGAWA, J.; MINAGAWA, Y.; ISHIHARA, H. *et al.* Tumor DNA ploidy and prognosis of patients with serous cystadenocarcinoma of the ovary. **Cancer,** v.72(3), p.804-808, 1993.

KING, M. E.; DIGIOVANNI, L. M.; YUNG, J. F. *et al.* Immature teratoma of the ovary grade 3, with karyotype analysis. **Int. J. Gynecological Pathology**, v.9, p.178-184, 1990.

KNUDSON, A. G. Antioncogenes and human cancer. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.90, p.10914-10921, 1993.

KOHLER, M.; JANZ, I.; WINTZER, H. O. *et al.* The expression of EGF receptors, EGF-like factors and c-myc in ovarian and cervical carcinomas and their potential clinical significance. **Anticancer Res.,** v.9, p.1537-1547, 1989.

KOKALJ-VOKAC, N.; ALEMEIDA, A.; GERBAULT-SEUREAU, M. *et al.* Two-color FISH characterization of i(1q) and der(1;16) in human breast cancer cells. **Genes Chromosom. Cancer,** v.7, p.8-14, 1993.

KOVACS, G.. Preferential involvement of chromosome 1q in a primary breast carcinoma. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.3, p.125-129, 1981.

KUSYK, C. J.; TURPENING, E. L; EDWARDS, C. L.; *et al.* Karyotype analysis of four solid gynecologic tumors. **Gynecol. Oncol.**, v.14, p.324-338, 1982.

LEE, J. H.; KAVANAGH, J. J.; WILDRICK, D. M. *et al.* Frequent loss of heterozigosity on chromosomes 6q, 11, and 17 in human ovarian carcinomas. **Cancer Research**, v.50, p.2724-2728, 1990.

LEUCHNER, E.; MEYER-BOLTE, K.; CASELITZ, J. *et al.* Fibroadenoma of the breast showing a translocation (6;14), a ring chromosome and two markers involving parts of chromosome 11. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.76, p.145-147, 1994.

LEUNG, W. Y.; SCHWARTZ, P. E.; NG, H. T. *et al.* Trisomy 12 in benign fibroma and granulosa cell tumor of the ovary. **Gynecologic Oncology**, v.38, p.28-31, 1990.

LIMON, J.; DAL CIN, P.; SANDBERG, A. A. Application of long-term collagenase disaggregation for the cytogenetic analysis of human solid tumors. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.23, p.305-313, 1986.

LINDGREN, V.; WAGGONER, S.; ROTHMENSCH, J. Monosomy 22 in two ovarian granulosa cell tumors. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.89, p.93-97, 1996.

LOPES, J. M.; SERUCA, R.; HALL, A. P. *et al.* Cytogenetic study of a sclerosing stromal tumor of the ovary. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.49, p.103-106, 1990.

LOUPART, M. L.; ADAMS, S.; ARMOUR, J.A.L. *et al.* Loss of heterozygosity on the X chromosome in human breast cancer. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.13, p.229-238, 1995.

LU, Y.; XIAO, S.; YAN, Y. *et al.* Direct chromosome analysis of 50 primary breast carcinomas. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.69, p.91-99, 1993.

MARK, J.; DAHLENFORS, R., WEDELL, B. Impact of the in vitro technique used on the cytogenetic patterns in pleomorphic adenomas. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.95, p.9-15, 1997.

MARK, H. F.; AFIFY, A. M.; WERNESS, B. A. *et al.* Trisomy 8 in stage I and III ovarian cancer detected by fluorescence in situ hybridization. **Exp. Mol. Pathol.,** v.66, p.76-81, 1999a.

MARK,H. F.; TAYLOR, W.; BROWN, S. *et al.* Abnormal chromosome 8 copy number in stage IV breast cancer studied by fluorescence *in situ* hybridization. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.108, p.1-5, 1999b.

McBRIDE, O. W.; BATTEY, J.; HOLLIS, G. F. *et al.* Localization of human variable and constant region immunoglobulin heavy chain genes on subtelomeric band q32 of chromosome 14. **Nucleic Acids Res.**, v.10, p.8155-8170, 1982.

McBRIDE, O. W.; MERRY, D.; GIVOL, D. The gene for human p53 cellular tumor antigen is located on chromosome 17 short arm (17p13). **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.,** v.83(1), p.130-134, 1986.

MERTENS, F.; JOHANSSON, B.; HÖGLUND, M. *et al.* Chromosomal imbalance maps of malignant solid tumors: a cytogenetic survey of 3185 neoplasms. **Cancer Research,** v.57, p.2765-2780, 1997.

MIKI, Y.; SWENSEN, J.; SHATTUCK-EDENS, D. *et al.* A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. **Science,** v.266, p.66-71, 1994.

MITCHELL, E. L. D.; SANTIBANEZ-KOREF, M. F. 1p13 is the most frequently involved band in structural chromosomal rearrangements in human breast cancer. **Genes, Chromosomes & Cancer,** v.2, p.278-289, 1990.

MITELMAN, F. Catolog of Chromosome Aberrations in Cancer. 5th Ed., Wiley-Liss, N.Y., 1994.

MITELMAN, F.; KANEKO, Y.; TRENT, J. M. Report of the committee on chromosome changes in neoplasia. Human gene mapping 11. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.58, p.1-2200, 1991.

MITELMAN, F.; KANEKO, Y.; BERGER, R. Report of the committee on chromosome changes in neoplasia. **Genome Priority Reports,** v.1, p.700-726, 1993.

MITELMAN, F.; MERTENS, F.; JOHANSSON, B. A breakpoint map of recurrent chromosomal rearrangements in human neoplasia. **Nature Genetics,** supplement v.15, p.417-473, 1997.

MRÓZEK, K.; LIMON, J.; DEBNIAK, J. *et al.* Trisomy 12 and 4 in a thecoma of the ovary. **Gynecologic Oncology**, v.45, p.66-68, 1992.

MULERIS, M.; ALMEIDA, A.; GERBAULT-SEUREAU, M. *et al.* Detection of DNA amplification in 17 primary breast carcinomas with homogeneously staining regions by a modified comparative genomic hybridization technique. **Genes, Chromosomes & Cancer,** v.10, p.160-170, 1994.

MULLER, W. J.; SINN, E.; PATTENGALE, P. K. *et al.* Single-step induction of mammary adenocarcinoma in transgenic mice bearing the activated *c-neu* oncogene. **Cell,** v.54, p.105-115, 1988.

NEGRINI, M.; MONACO, C.; VORECHOVSKY, I. *et al.* The *FHIT* gene at 3p14.2 is abnormal in breast carcinomas. **Cancer Res.,** v.56, p.3173-3179, 1996.

NIELSEN, K. V.; BRIAND, P. Cytogenetic analysis of in vitro karyotype evolution in a cell line established from nonmalignant human mammary epithelium**. Cancer Genet. Cytogenet.**, v.39, p.103-118, 1989.

NOVIELLO, C.; COURJAL, F.; THEILLET, C. Loss of heterozygosity on the long arm of chromosome 6 in breast cancer: posibly four regions of deletion. **Clin. Cancer Res.,** v.2, p.1601-1606, 1996.

NOWELL, P. C.; HUNGERFORD, D. A. A minute chromosome in human granulocytic leukemia. **Science**, v.132, p.1497, 1960.

O'CONNELL, P.; FISCHBACH, K.; HILSENBECK, S. *et al.* Loss of heterozygosity at D14S62 and metastatic potential of breast cancer. **J. Natl. Cancer**, v.91, p.1391-1397, 1999.

PANANI,A.; FERTI-PASSANTONOPOULOU,A. Common marker chromosomes in ovarian cancer. **Cancer,Genet.Cytogenet.**, v.16, p.65-71, 1985.

PANDIS, N.; HEIM, S.; BARDI, G. *et al.* Whole-arm t(1;16) and i(1q) as sole anomalies identify gain of 1q as a primary chromosomal abnormality in breast cancer. **Genes, Chromosomes & Cancer,** v.5, p.235-238, 1992.

PANDIS, N.; HEIM, S.; BARDI, G. *et al.* Chromosome analysis of 20 breast carcinomas: cytogenetic multiclonality and karyotypic-pathologic correlations. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.6, p.51-57, 1993a.

PANDIS, N.; JIN, Y.; LIMON, J. *et al.* Intersticial deletion of the short arm of chromosome 3 as a primary chromosome abnormality in carcinomas of the breast. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.6, p.151-155, 1993b.

PANDIS, N.; BARDI, G.; JIN,Y. *et al.* Unbalanced t(1;16) as the sole karyotypic abnormality in a breast carcinoma and its limph node metastasis. **Cancer Genetic. Cytogenet.,** v.75, p.158-159, 1994.

PANDIS, N.; JIN, Y.; GORUNOVA, L. *et al.* Chromosome analysis of 97 primary breast carcinomas: Identification of eight karyotypic subgroups. **Genes, Chromosomes & Cancer,** v.12, p.173-185, 1995a.

PANDIS, N.; TEIXEIRA, M. R.; GERDES, A. M. *et al.* Chromosome abnormalities in bilateral breast carcinomas. Cytogenetic evaluation of the clonal origin of multiple primary tumors. **Cancer,** v.76, p.250-258, 1995b.

PANDIS, N.; BARDI, G.; MITELMAN, F. *et al.* Deletion of the short arm of chromosome 3 in breast tumors. **Genes, Chromosomes & Cancer,** v.18, p.241-245, 1997.

PANDIS, N.; TEIXEIRA, M. R.; ADEYINKA, A. *et al.* Cytogenetic comparison of primary tumors and lymph node metastases in breast cancer patients. **Genes Chromosomes & Cancer**, v.22, p.122-129, 1998.

PEJOVIC, T.; HEIM, S.; ORNDAL, C. *et al.* Simple numerical chromosome aberrations in well-differentiated malignant epithelial tumors. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.49, 95-101, 1990.

PEJOVIC, T.; HEIM, S.; MANDAHL, N. *et al.* Chromosome aberrations in 35 primary ovarian carcinomas. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.4, p.58-68, 1992a.

PEJOVIC, T.; HIMMELMANN, A.; HEIM, S. *et al.* Prognostic impact of chromosome aberrations in ovarian cancer. **Br. J. Cancer**, v.65, p.282-286, 1992b.

PEJOVIC, T.; HEIM, S.; ALM, P. *et al.* Isochromosome 1q as the sole karyotypic abnormality in a sertoli cell tumor of the ovary. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.65, p.79-80, 1993.

PEJOVIC, T.; IOSIF, C.S.; MITELMAN, F. *et al.* Karyotypic characteristics of borderline malignant tumors of the ovary: trisomy 12, trisomy 7, and r(1) as nonrandom features. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.92, p.95-98, 1996a.

PEJOVIC, T.; ALM, P.; IOSIF, C.S. Cytogenetic findings in four malignant mixed mesodermal tumors of the ovary. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.88, p.53-56, 1996b.

PETERSSON, C.; PANDIS, N.; MERTENS, F. *et al.* Chromosome aberrations in prophylatic mastectomies from women belonging to breast cancer families. **Genes Chromosomes & Cancer**, v.16, p.185-188, 1996.

PHILLIPS,N.; ZIEGLER,M.; SAHA,B. *et al.* Allelic loss on chromosome 17 in human ovarian cancer. **Int. J. Cancer**, v.54, p.85-91, 1993.

RAGNARSSON, G.; EIRIKSDÓTTIR, G.; JOHANNSDÓTTIR, J. T. *et al.* Loss of heterozygosity at chromosome 1p in different solid human tumors: association with survival. **Br. J. Cancer,** v.79(9-10), p.1468-1474, 1999.

REBBECK, T. R.; COUCH, F. J.; KANT, J. *et al.* Genetic heterogeneity in hereditary breast cancer: role of *BRCA1* and *BRCA2*. **Am. J. Hum. Genet.,** v.59, p.547-553, 1996.

RIED, T.; JUST, K. E.; HOLTGREVE-GREZ, H. *et al.* Comparative genomic hybridization of formalin-fixed, paraffin-embedded breast tumors reveals different patterns of chromosomal gains and losses in fibroadenomas and diploid and aneuploid carcinomas. **Cancer Research**, v.56, p.5415-5423, 1995.

ROBERTS, C. G.; TATTERSALL, M. H. N. Cytogenetic study of solid ovarian tumors. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.48, p.243-253, 1990.

ROBBINS, S. L.; COTRAN, R. S. A Mama, p.982-995, in: Patologia Estrutural e Funcional, 4ª. ed., 1991.

RODGERS, C. S.; HILL, S. M.; HULTÉN, M. A. Cytogenetic analysis in human breast carcinoma I. Nine cases in the diploid range investigated using direct preparations. **Cancer, Genet. Cytogenet.,** v.13, p.95-119, 1984.

ROHEN, C.; MEYER-BOLTE, K.; BONK, U. *et al.*. Trisomy 8 and 18 as frequent clonal and single-cell aberrations in 185 primary breast carcinomas. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v80, p33-39, 1995.

SAITO, S.; SIRAHAMA, S.; MATSUSHIMA, M. *et al.* Definition of a commonly deleted region in ovarian cancers to a 300-kb segment of chromosome 6q27. **Cancer Res.**, v.56, p.5586-5589, 1996.

SANDROS, J.; MARK, J.; HAPPONEN, R. P. *et al.* Specificity of 6q- markers and other reccurent deviations in human malignant salivary gland tumors. **Anticancer Res.**, v.8, p.637-644, 1988.

SATO, T.; SAITO, H.; MORITA, R. *et al.* Allelotype of human ovarian cancer. **Cancer Res.**, v.51, p.5118-5122, 1991a.

SATO, T.; AKYIAMA, T.; SAKAMOTO, G. *et al.* Accumulation of genetic alterations and progression of primary breast cancer. **Cancer Research**, v.51, p.5791-5799, 1991b.

SCHERES, V. M. J. C. Identification of two Robertsonian translocation with a Giemsa banding technique. **Hum. Genet.,** v.15, p.253-256, 1972.

SHENSON, D.; GALLION, H.; POWELL, D. *et al.* Loss of heterozygosity and genomic instability in synchronous endometrioid tumors of the ovary and endometrium. **Cancer**, v.76, p.650-657, 1995.

SLAMON, D. J.; CLRAK, G. M.; WONG, S. G. *et al.* Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. **Science,** v.235, p.177-182, 1987.

SOLOMON, E.; LEDBETTER, D. H. Report of the Committee on the Genetic Constitution of Chromosome 17. **Cytogenet. Cell Genet.**, v.58, p.686-738, 1991.

SPELEMAN, F.; POTTER, C.; DAL CIN, P. *et al.* i(12p) in a malignant ovarian tumor. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.45, p.49-53, 1990.

SPELEMAN, F.; DERMAUT, B.; POTTER, C. R. *et al.* Monosomy 22 in a mixed germ cell-sex cord-stromal tumor of the ovary. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.19, p.192-194, 1997.

STEINARSDÓTTIR, M.; PÉTURSDÓTTIR, I.; SNORRADÓTIR, S. *et al.*. Cytogenetic studies of breast carcinomas: different karyotypic profiles detected by direct harvesting and short-term culture. **Genes Chromosomes & Cancer**, v.13, p.239-248, 1995.

SURTI, U.; HOFFNER, L.; CHAKRAVARTI, A. *et al.* Genetics and biology of human ovarian teratomas. I. Cytogenetic analysis and mechanism of origin. **Am.J.Hum.Genet.**, v.47, p.635-643, 1990.

TAETLE, R.; AICKIN, M.; YANG, J. M. *et al.* Chromosome abnormalities in ovarian adenocarcinoma: I. Nonrandom chromosome abnormalities from 244 cases. **Genes, Chromosomes & Cancer,** v.25, p.290-300, 1999.

TAKITA, K.; SATO, T.; MIYAGE, M. *et al.* Correlation of loss of alleles on the short arms of chromosomes 11 and 17 with metastasis of primary breast cancer to lymph nodes. **Cancer Res.,** v.52, p.3914-3917, 1992.

TANAKA, K.; BOICE, C. R.; TESTA, J. R. Chromosome aberrations in nine patients with ovarian cancer. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.43, p.1-14, 1989.

TAVASSOLI, M.; RUHRBERG, C.; BEAUMONT, V. *et al.* Whole chromosome 17 loss in ovarian cancer. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.8, p.195-198, 1993.

TEIXEIRA, M. R.; PANDIS, N.; BARDI, G. *et al.* Cytogenetic analysis of multifocal breast carcinomas: detection of karyotypically unrelated clones as well as clonal similarities between tumour foci. **Br. J. Cancer**, v.70, p.992-927, 1994.

TEIXEIRA, M. R.; PANDIS, N.; BARDI, G. *et al.* Clonal heterogeneity in breast cancer: karyotypic comparisons of multiple intra- and extra-tumorous samples from 3 patients. **Int. J. Cancer,** v.63, p.63-68, 1995.

TEIXEIRA, M. R.; PANDIS, N.; BARDI, G. *et al.* Karyotypic comparisons of multiple tumorous and macroscopically normal surrounding tissue from patients with breast cancer. **Cancer Res.,** v.56, p.855-859, 1996a.

TEIXEIRA, M. R.; PANDIS, N.; GERDES, A. *et al.* Cytogenetic abnormalities in an in situ ductal carcinoma and five prophylactically removed breasts from members of a family with hereditary breast cancer. **Breast Cancer Res. Treat.,** v.38, p.177-182, 1996b.

TEIXEIRA, M. R.; PANDIS, N.; BARDI, G. *et al.* Discrimination between multicentric and multifocal breast carcinoma by cytogenetic investigation of macroscopically distinct ipsilateral lesions. **Genes, Chromosomes & Cancer,** v.18, p.170-174, 1997.

TEIXEIRA, M. R.; QVIST, H.; BØHLER, P. J. *et al.* Cytogenetic Analysis Shows That Carcinosarcomas of the Breast Are of Monoclonal Origin. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.22, p.145-151, 1998.

TEYSSIER, J. R. Nonrandom chromosomal changes in human solid tumors; Application of an improved culture method. **J. Natl. Cancer Inst.**, v.79, p.1189-1195, 1987.

TEYSSIER, J. R.; ADNET, J. J.; PIGEON, F. *et al.* Chromosomal changes in an ovarian granulosa cell tumor: similarity with carcinoma. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.14, p.147-152, 1985.

THARAPEL, S. A.; QUMSIYEH, M. B.; PHOTOPULOS, G. Numerical chromosome abnormalities associated with early clinical stages of gynecologic tumors. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.55, p.89-96, 1991.

THOMPSON, F. H. Cytogenetic methods and finding in human solid tumors. p.375-430 in: The AGT Cytogenetics Laboratory Manual; 3rd edition, Barch, Knutsen, Spurbeck, 1997.

THOMPSON, F. H.; EMERSON, J.; DALTON, W. *et al.* Clonal Chromosome abnormalities in human breast carcinomas. I. Twenty-eight cases with primary disease. **Genes Chromosomes & Cancer**, v.7, p.185-193, 1993.

THOMPSON, F. H.; LIU, Y.; EMERSON, J. *et al.* Simple numeric abnormalities as primary karyotype changes in ovarian carcinoma. **Genes Chromosomes & Cancer**, v.10, p.262-266, 1994.

THOMPSON, F. H.; TAETLE, R.; TRENT, J. M. *et al.* Band 1p36 abnormalities and t(1;17) in ovarian carcinoma. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.96, p.106-110, 1997.

TIBILETTI, M. G.; BERNASCONI, B.; FURLAN, D. *et al.* Early involvement of 6q in surface epithelial ovarian tumors. **Cancer Res.**, v.56, p.4493-4498, 1996.

TRENT, J. M. Prevalence and clinical significance of cytogenetic abnormalities in human ovarian cancer. **Ovarian Cancer**, p.1-21, 1985a.

TRENT, J. M.. Cytogenetic and molecular biologic alterations in human breast cancer: a review. **Breast Cancer Res. Treat.**, v.5, p.221-229, 1985b.

TRENT, J. M.; SALMON, S. E. Karyotypic analysis of human ovarian carcinoma cells cloned in short term agar culture. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.3, p.279-291, 1981.

TRENT, J. M.; YANG, J. M.; EMERSON, J. *et al.* Clonal chromosome abnormalities in human breast carcinomas II. Thirty-four cases with metastatic disease. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v.7, p.194-203, 1993.

TSUJI, T.; KAWAUCHI, S.; UTSUNOMIYA, T. *et al.* Fibrosarcoma versus cellular fibroma of the ovary. **Am. J. Surg. Pathol.**, v.21(1), p.52-59, 1997.

VALGARDSDOTTIR, R.; STEINARDSDOTTIR, M. ANAMTHAWAT-JONSSON *et al.* Molecular genetics and cytogenetics of breast carcinomas: comparison of the two methods. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.92, p.77-42, 1996.

VAN ECHTEN, J.; VAN DOORN, L. C.; VAN DER LINDEN, H. C. *et al.* Cytogenetics of a malignant ovarian germ-cell tumor. **Int. J. Cancer**, v.77, p.217-218, 1998.

VERHEST, A.; NEDOSZYTKO, B.; NOEL, J. C. *et al.* Translocation (6;16) in a case of granulosa cell tumor of the ovary. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.60, p.41-44, 1992.

WAKE, N.; SLOCUM, H. K.; RUSTUM, Y. M. *et al.* Chromosomes and causation of human cancer and leukemia. A method for chromosome analysis of solid tumors. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.3, p.1-10, 1981.

WHANG-PENG, J.; KNUTSEN, T.; DOUGLASS, E. C. *et al.* Cytogenetic studies in ovarian cancer. **Cancer Genet. Cytogenet.**, v.11, p.91-106, 1984.

WINQVIST, R.; HAMPTON, G. M.; MANNERMAA, A. *et al.* Loss of heterozygosity for chromosome 11 in primary human breast tumors is associated with poor survival after metastasis. **Cancer Res.**, v.55, p.2660-2664, 1995.

WOOSTER, R.; NEUHAUSEN, S.; MANIGION, J. *et al.* Localization of a breast cancer susceptibility gene (BRCA2) to chromosome 13q by genetic linkage analysis. **Science,** v.265, p.2088-2090, 1994.

WUICIK, L. Estudo Citogenético em Carcinomas Mamários. Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal do Paraná, para obtenção do grau de mestre, 2000.

YANG-FENG, T. L.; KATZ, S. N.; CACANGIU, M. L. *et al.* Cytogenetic analysis of ependymoma and teratoma of the ovary. **Cancer Genet. Cytogenet.,** v.35, p.83-89, 1988.

YANG-FENG, T. L.; LI, S.; HAN, H. *et al.* Frequent loss of heterozigosity on chromosomes Xp and 13q in human ovarian cancer. **Int. J. Cancer**, v.52, p.575-580, 1992.

YANG-FENG, T. L.; HAN, H.; CHEN, K. C. *et al.* Allelic loss in ovarian cancer. **Int. J. Cancer**, v.54, p.546-551, 1993.

YONISH-ROUACH, E.; RESNITZKY, D.; LOTEM, J. *et al.* Wild-type p53 induces apoptosis of myeloid leukaemia cells that is inhibited by interleuken-6. **Nature**, v.352, p.345-347, 1991.

YUNIS, J. J. High resolution of human chromosomes. **Science**, v.191, p.1268-1270, 1976.

ZAFRANI, B.; GERBAULT-SEUREAU, M.; MOSSERI, V. *et al.* Cytogenetic study of breast cancer. **Human Pathology,** v.23, no.5, 1992.

ZANG, Y.; MATTHIESEN, P.; SIEBERT, R. Detection of 6q deletions in breast carcinoma cell lines by fluorescence in situ hybridization. **Human Genet.,** v.103, p.727-729, 1998.

ZECH, L. Investigation of metaphase chromosomes with DNA-binding fluorochromes. **Exptl. Cell Res.,** v.58, p.463, 1969.

ZHANG, R.; WILEY, J.; HOWARD, S. P. *et al.* Rare clonal karyotypic variants in primary cultures of human breast carcinomas cells. **Cancer Research**, v.49, p.444-449, 1989.