

Darley de Lima Ferreira Filho



Correlação clínico-patológica entre os imunofenótipos de carcinoma invasivo da mama quanto ao *status* dos receptores hormonais e do HER-2

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Patologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientadora

Dra. Maria do Carmo C. Abreu e Lima

Profa. Associado de Patologia do CCS, UFPE

Linha de Pesquisa

Patologia e epidemiologia das doenças neoplásicas e do desenvolvimento



Ferreira Filho, Darley de Lima

Correlação clínico-patológica em diferentes imunofenótipos de carcinoma invasivo da mama, quanto ao status dos receptores hormonais e do HER-2 / Darley de Lima Ferreira Filho . – Recife: O Autor, 2011.

89 folhas: il., fig., tab. ; 30 cm

Orientador: Maria do Carmo Carvalho de Abreu e Lima

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patologia, 2011.

Inclui bibliografia, apêndices e anexos.

1. Câncer de mama. 2. Fatores prognósticos. 3. Receptores hormonais e HER-2. I. Abreu e Lima, Maria do Carmo Carvalho de. II. Título.

616.994

CDD (20.ed.) CCS2012-003

UFPE

**Ata de Sessão da 14ª defesa de Dissertação de Mestrado de 2011 do Programa de Pós-Graduação em Patologia.**Área de concentração: **PATOLOGIA**Mestrando: **DARLEY DE LIMA FERREIRA FILHO**

Às nove horas (9h00min) do dia doze de dezembro de dois mil e onze (12/12/2011), no auditório do Programa de Pós-Graduação em Patologia, teve lugar a defesa de dissertação do mestrando **DARLEY DE LIMA FERREIRA FILHO**, com dissertação intitulada: **"CORRELAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA EM DIFERENTES IMUNOFENÓTIPOS DE CARCINOMA INVASIVO DA MAMA, QUANTO AO STATUS DOS RECEPTORES HORMONAIS E DO HER-2"**. O aluno, que já completou todos os créditos da grade curricular deste curso de mestrado, teve como orientadora a Dra. Maria do Carmo Carvalho de Abreu-e-Lima. Como banca examinadora do trabalho, designada pelo Colegiado do curso e aprovada pelas Câmaras de Pesquisa e Pós-Graduação, teve-se a seguinte: **Titulares:** Dra. Maria Bernadete de Sousa Maia, Professora Associada de Farmacologia do Depto. de Fisiologia e Farmacologia da UFPE; Dra. Manuela Figueiroa Lyra de Freitas, professora do Departamento de Anatomia do CCB/UFPE e o Dr. Antônio Simão dos Santos Figueira Filho, Professor Regente da UPE e Professor Assistente da UFPE. **Suplentes:** Dr. Hilton Justino da Silva, Professor Adjunto do curso de Fonoaudiologia da UFPE e vice-coordenador do mestrado em patologia -CCS/UFPE e o Prof. Dr. Nicodemus Teles de Pontes Filho, coordenador do Programa de Pós- Graduação em Patologia- CCS/UFPE. A Professora Dra. Maria Bernadete de Sousa Maia, abriu a sessão e em seguida convidou a Profa. Dra. Manuela Figueiroa Lyra de Freitas para presidir a banca examinadora. A Professora em pauta convidou o mestrando **DARLEY DE LIMA FERREIRA FILHO** para apresentar sua dissertação e o informou que teria trinta (30) minutos para apresentar o seu trabalho e cada examinador teria quinze (15) minutos para questionar, tendo o mestrando o mesmo tempo para defender. Após a apresentação do trabalho, foi realizada a arguição por cada um dos seus examinadores com as respectivas respostas pelo mestrando. Para concluir, a comissão examinadora se reuniu sigilosamente e julgou o candidato **"APROVADO"**, devendo o mesmo fazer as devidas correções sugeridas pela banca, em um prazo máximo de noventa (90) dias a serem contados da presente data, na edição final da dissertação. Nada mais havendo a tratar foi encerrada a sessão da qual para constar, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e a quem de direito. Recife, em 12 de dezembro de 2011. Margarete Valdevino da Silva, secretária.

~~Darley de Lima Ferreira Filho (Mestrando)~~~~Maria do Carmo de Abreu e Lima (Orientadora)~~~~Maria Bernadete de Sousa Maia (1ª Exam.).~~~~Testemunha 1~~~~Manuela Figueiroa Lyra de Freitas (2º Exam.).~~~~Testemunha~~~~Antônio Simão dos Santos Figueira Filho (3ª Exam.).~~~~Testemunha 3~~



Universidade Federal de Pernambuco

REITOR

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Sílvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Francisco de Souza Ramos

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. José Thadeu Pinheiro

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DIRETOR SUPERINTENDENTE

Prof. George da Silva Telles

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

CHEFE

Profa. Catarina de Oliveira Neves

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

NÍVEL MESTRADO

COORDENADOR

Prof. Nicodemos Teles Pontes Filho

VICE-COORDENADOR

Prof. Hilton Justino da Silva

CORPO DOCENTE

Prof. Adelmar Afonso de Amorimjúnior

Profa. Caroline Wanderley Souto Ferreira Anselmo

Profa. Eulália Camelo Pessoa de Azevedo Ximenes

Prof. Hilton Justino da Silva

Profa. Liriane Baratella Evêncio

Profa. Luciana Maria Silva de Seixas Maia

Profa. Manuela Figueiroa Lyra de Freitas

Profa. Maria Bernadete Sousa Maia

Profa. Maria do Carmo Carvalho de Abreu E Lima

Prof. Mario Ribeiro de Mélo-Júnior

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

Profa. Paloma Lys de Medeiros

Profa. Rejane Pereira Neves

Prof. Roberto José Vieira de Mello

Profa. Wylla Tatiana Ferreira-e-Silva

Normatização Adotada



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Programas de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde
Av. Prof. Moraes Rego s/n - Cidade Universitária - CEP: 50670-901 - Recife – PE

I - REGULAMENTAÇÃO DA DEFESA

O aluno do Programa da Pós-Graduação /CCS/UFPE deve:

- 1 Apresentar a dissertação em formato de artigos*, dos quais pelo menos um artigo deve ser enviado para publicação em revista indexada no mínimo como Qualis Nacional “A” da CAPES. O formato de apresentação dos artigos segue as normas de “instruções aos autores” das Revistas que serão submetidos. A revisão da literatura pode ser apresentada sob a forma de artigo de revisão a ser submetido à publicação.
- 2 Apresentar a tese em formato de artigos, dos quais pelo menos dois artigos devem estar submetidos à publicação em revistas indexadas no mínimo como Qualis Nacional A da CAPES. O formato de apresentação dos artigos segue as normas de “instruções aos autores” das Revistas que são submetidos (apresentar comprovantes para a defesa de tese). A revisão da literatura pode ser apresentada sob a forma de artigo de revisão também submetido à publicação.

II - NORMAS DA APRESENTAÇÃO¹

ESTRUTURA	ORDEM DOS ELEMENTOS
1 Pré-textuais Elementos que antecedem o texto com informações que ajudam na identificação e utilização do trabalho.	1.1 Capa 1.2 Lombada 1.3 Folha de rosto 1.4 Errata (opcional, se for o caso) 1.5 Folha de aprovação 1.6 Dedicatória(s) 1.7 Agradecimento(s) 1.8 Epígrafe (opcional) 1.9 Resumo na língua vernácula 1.10 Resumo em língua estrangeira 1.11 Lista de ilustrações 1.12 Lista de tabelas 1.13 Lista de abreviaturas e siglas 1.14 Lista de símbolos 1.15 Sumário
2 Textuais	2.1 Apresentação 2.2 Revisão da literatura (ou artigo de revisão) 2.3 Métodos 2.4 Resultados - Artigo (s) original (ais) 2.5 Considerações finais
3 Pós-textuais Elementos que complementam o trabalho	3.1 Referências 3.2 Apêndice (s) 3.3 Anexo (s)

¹Adaptadas segundo as recomendações da ABNT NBR 14724, 2005

(NBR 14724: informação e documentação: trabalhos acadêmicos: apresentação. Rio de Janeiro, 2005).

Dedicatória

Aos meus pais

Darley e Ilda Ferreira,

A minha querida e amada esposa

Dra. Nancy Ferreira

As lindas filhas

Marina e Thais Ferreira,

que sempre apoiaram e
deram todo carinho durante
toda jornada do meu mestrado.

Agradecimentos

A amiga e orientadora *Professora Maria do Carmo C. Abreu e Lima*, pela sua paciência, atenção e ensinamentos, que passou para mim durante o mestrado. Por ter sido sempre solícita, mesmo com suas tantas atribuições.

Aos *Professores Nicodemos Teles e Hilton Justino*, por sua amizade e bondade durante todo o curso. Sempre dispostos a ajudar os que cercam.

Resumo

Objetivos: Correlacionar as características clínica-patológicas e a evolução clínica, com os diferentes imunofenótipos (receptores hormonais e status do HER-2) em pacientes com câncer de mama. **Material e Método:** Foram estudadas 211 pacientes do sexo feminino em tratamento no Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena, Recife PE, no período de 1 ano (julho de 2009 até julho de 2010). Os quais foram separados em 2 grupos, de acordo com os imunofenótipos: o grupo 1 (alto risco): $RE^{\ominus}/RP^{\ominus}/Her-2^{\ominus}$; $RE^{\ominus}/RP^{\ominus}/Her-2^{+}$; $RE^{+}/RP^{+}/Her-2^{+}$; e $RE^{+}/RP^{\ominus}/Her-2^{+}$, e o grupo 2 (baixo risco): $RE^{+}/RP^{+}/Her-2^{\ominus}$ e $RE^{+}/RP^{\ominus}/Her-2^{\ominus}$. Em toda a análise foi considerado nível de significância de 5%. **Resultados:** A faixa etária dominante foi a de 41 a 60 anos com 116 casos (55,2%), com idade média de 49,77 anos. Com relação à raça, cor negra foi observada em 91 (51,7%) pacientes e 85 (48,3%) eram de cor branca. A mamografia, 121 pacientes (57,9%) foram diagnosticadas na categoria BI-RADS 4 e 72 (35,2%) na BI-RADS 5. O tipo histológico dominante foi o carcinoma ductal invasivo em 195 (92,5%). A maior parte das pacientes estavam no estágio I/II com 153 (73,4%) das pacientes. Quanto ao comprometimento de linfonodos axilares observou-se: ausência de metástase em 111 (52,1%) pacientes, metástase em 1 a 3 linfonodos em 51 (24,0%); 4 a 9 linfonodos em 31 (15,3%) e acima de 10 linfonodos em 18 (8,6%). Foi realizado a cirurgia conservadora em 105 (48,0%) pacientes e mastectomia em 81 (38,5%). Metástase a distância foi verificada em 34 (16,2%) pacientes, sendo mais frequente a metástase óssea. Em relação ao imunofenótipos, 107 pacientes (51,3%) enquadraram-se no grupo 1 /alto risco e 104 (48,7%) no grupo 2/baixo risco. **Conclusão:** Houve correlação significativa entre o imunofenótipo de alto risco /grupo 1 com idade mais jovem (≤ 40 anos), raça negra, e maior comprometimento de linfonodos axilares (≥ 10 linfonodos positivos).

Palavras-chaves: Câncer de mama, fatores clínico-patológicos, imunoistoquímica, prognóstico



Abstract

Objectives: To correlate the clinico-pathologic characteristics and clinical course of breast cancer patients, with different breast cancer phenotypes based on hormonal receptor and Her-2 status. **Material and Method:** Two-hundred and eleven women treated at the Mastology Service, Hospital Barão de Lucena, Recife PE, from July 2009 to July 2010, were selected. They were separated into two groups according to the tumor immunophenotype: group 1 (high-risk): $RE^{\ominus}/RP^{\ominus}/Her-2^{\ominus}$; $RE^{\ominus}/RP^{\ominus}/Her-2^{+}$; $RE^{+}/RP^{+}/Her-2^{+}$; and $RE^{+}/RP^{\ominus}/Her-2^{+}$, and group 2 (low-risk): $RE^{+}/RP^{+}/Her-2^{\ominus}$ e $RE^{+}/RP^{\ominus}/Her-2^{\ominus}$. **Results:** The predominant age range was 41 to 60 years old, representing 116 cases (55.2%), with a mean age of 49.77. Ninety-one patients (51.7%) were Afro-descendants, and 85 (48.3%) were Hispanic-whites. One-hundred and twenty-two patients (57.9%) had mammographic lesions classified as BI-RADS 4 and 72 (35.2%) as BI-RADS 5. The most common histological subtype was invasive ductal carcinoma, which corresponded to 94.6% of the cases. The majority of patients (73.4%) had Stage I/II disease. Regarding lymph node involvement: 111 (52.1%) patients had no metastases, 51 (24.0%) had 1 to 3 positive nodes; 31 (15.3%) had 4 to 9 positive nodes and 18 (8.6%) had 10 or more positive nodes. Conservative surgery and mastectomy were performed in 105 (48.0%) and 81(38.5%) patients, respectively. Thirty-four (16.2%) patients had distant metastases, most commonly to bones. One-hundred and seven patients (51.3%) had tumors classified as group 1 /high-risk immunophenotype and 104 (48.7%) as group 2/low-risk immunophenotype. **Conclusion:** Tumors classified as group 1/high-risk immunophenotype were significantly associated with black and younger patients (≤ 40 years old), and more extensive lymph node involvement (ten or more positive nodes).

Key-words: breast cancer, clinico-pathologic factors, immunohistochemistry, prognosis.

Lista de Ilustrações

Quadro 1	Classificação dos fatores de prognóstico do câncer de mama.....	20
Figura 1	Receptor de estrógeno progesterona Her-2 e Ki-67.....	25
Figura 2	Interpretação do Her-2.....	27
Quadro 2	Sistema TNM para estadiamento do câncer de mama.....	31
Quadro 3	Estadiamento do câncer de mama segundo o sistema TNM.....	32
Figura 3	Técnicas utilizadas para obtenção da amostra.....	36
Figura 4	Método de coleta do material cirúrgico.....	37
Figura 1	Fluxograma.....	41
Figura 1	Carcinoma ductal invasivo bem diferenciado, grau 1. O tumor é positivo para ambos os receptores hormonais (RE e RP); negativo para o HER-2 (escore 1+) e baixo índice proliferativo (Ki-67 < 5%). (original 400X)....	55
Figura 2	Carcinoma ductal invasivo mal diferenciado, grau 3, triplo negativo. O tumor é negativo para ambos os receptores hormonais (RE e RP); negativo para o HER-2 (escore 1+) e com alto índice proliferativo (Ki-67 = 70%). (original 400X).....	56
Figura 3	Carcinoma ductal invasivo mal diferenciado, grau 3. O tumor é negativo para ambos os receptores hormonais (RE e RP); positivo para o HER-2 (escore 3+) e com alto índice proliferativo (Ki-67 = 50%). (original 400X)	57

Lista de Tabelas

Artigo de Revisão

Tabela 1	Revisão sistemática.....	42
-----------------	--------------------------	----

Artigo Original

Tabela 1	Análise descritiva e de associação do resultado do exame imunoistoquímica segundo idade, cor da pele, tipo histológico estadiamento patológico, linfonodos, BI-RADS, tipo de procedimento e recorrência.....	54.
-----------------	---	-----

Lista de Abreviaturas e Siglas

BI-RADS	<i>Breast Imaging Reporting and Data System</i>
CKS	Citoqueratinas
EGFR	Receptor do fator de crescimento epidérmico
FISH	<i>Fluorescence in situ hybridization</i>
HBL	Hospital Barão de Lucena
HE	Hematoxilina eosina
HER2	Receptor epidérmico humano
IHQ	Imunohistoquímica
LS	Linfonodo sentinela
RH	Receptor hormonal
RE	Receptor de estrógeno
RP	Receptor de progesterona
TNM	Tumor,Linfonodos,Metástase

Sumário

1.APRESENTAÇÃO.....	13
1.1 Caracterização do Problema.....	14
 2.REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 Epidemiologia.....	17
2.2 História natural do câncer de mama.....	17
2.3 Fatores prognóstico.....	19
2.3.1 Tamanho do tumor.....	20
2.3.2 Envolvimento linfonodal.....	21
2.3.3 Tipo histológico.....	22
2.3.4 Idade.....	23
2.3.5 Grau Histológico	23
2.3.6 Receptores Hormonais	24
2.3.7 Oncogene HER2.....	26
2.3.8 Fatores indicativos de proliferação.....	29
2.3.9 Estadiamento.....	30
3 PACIENTES E MÉTODOS.....	33
3.1 Local do estudo.....	34
3.2 População do estudo.....	34
3.3 Desenho do estudo.....	34
3.4 Critérios e procedimentos para seleção dos pacientes.....	34
3.4.1 Critérios de inclusão	34
3.4.2 Critérios de exclusão.....	35
3.5 Definição das variáveis.....	35
3.6 Método de coleta.....	36
3.7 Análise estatística.....	38
3.8 Considerações éticas.....	38
4 RESULTADOS.....	39
4.1 Revisão sistemática.....	40



Avaliação do impacto status dos receptores hormonais e da proteína Her-2 no prognóstico do câncer de mama.....	40
Resumo.....	40
Abstract.....	40
Introdução.....	41
Metodologia.....	41
Revisão sistemática.....	41
Discussão.....	42
Conclusão.....	45
Referências.....	45
4.2 Artigo Original.....	47
Correlação clínico-patológica em diferentes imunofenótipos de carcinoma invasivo da mama, quanto ao status dos receptores hormonais e do HER-2.....	47
Resumo.....	48
Abstract.....	49
Introdução.....	50
Metodologia.....	51
Resultados.....	52
Discussão.....	58
Conclusões.....	65
Referências.....	65
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	70
REFERÊNCIAS.....	72
APÊNDICES.....	83
Apêndice A – Ficha de coleta dos dados de pacientes do HBL.....	84
ANEXOS.....	85
Anexo A – Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos – HCP.....	86
Anexo B – Banco de dados dos exames de imunoistoquímica.....	87
Anexo C – Trabalho apresentado no XVI Congresso Brasileiro de Mastologia.....	88
Anexo D – Formatado conforme o Journal of the Senologic International Society	89



APRESENTAÇÃO



1.1 Caracterização do problema

O câncer de mama é o câncer de liderança no mundo em termos de incidência e mortalidade em mulheres. A cada ano que passa, tem sido observado um aumento da incidência dessa doença. Nos últimos anos as pesquisas tiveram uma grande evolução, porém o problema ainda é devastador. O número de casos de câncer vem aumentando em todo o mundo. Porém, a incidência e a mortalidade por esta causa apresentam diferenças relevantes segundo as regiões geográficas (PARKIN, 2001; TAVASSOLI, DEVILEE, 2003).

Nos últimos anos estimam a ocorrência de 1 milhão de casos de câncer de mama e que acima de 9% das mulheres desenvolverão a doença durante suas vidas. A maior parte dos casos ocorre em países desenvolvidos, tendo a Holanda maior incidência (90,2/100.000), seguido pelos Estados Unidos com taxa de (86,9/100.000) adequado (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2005, 2007). Conforme relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS), a mortalidade global no ano de 2007 foi de cerca 548.000 óbitos, dos quais, 72% ocorreram em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento (*World Health Organization (WHO)*). Nestes países, tanto a incidência como a mortalidade elevaram-se consideravelmente devido ao envelhecimento populacional, mudanças nos padrões reprodutivos, maior exposição aos fatores de risco e problemas relacionados ao acesso oportuno para detecção e diagnóstico precoce bem como para tratamento adequado (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2005, 2007).

A detecção precoce do câncer de mama é fator decisivo na determinação do prognóstico. Os estudos epidemiológicos em diferentes regiões do Brasil são importantes para o desenvolvimento de melhores programas de prevenção e rastreamento.

O câncer de mama é uma doença que não possui sintomas e sinais patognomônicos. A doença manifesta-se sob diversas formas clínico-patológicas, o que por vezes pode dificultar o diagnóstico em fases iniciais. Para que haja a detecção precoce do câncer de mama deve-se realizar o exame clínico das mamas e a mamografia. O diagnóstico precoce da neoplasia permite que o tratamento seja instituído em tempo hábil, o que ocasiona a redução da mortalidade. A maioria desses tumores é derivada das células: da unidade ducto-lobular terminal da glândula mamária, luminais secretoras e/ou basais e mioepiteliais (BIRNBAUM, 2004; INCA, 2010)).

Caracterizam-se como neoplasias heterogêneas, com vários subtipos histopatológicos, além de apresentações clínicas diferentes com diversas variações de resposta ao tratamento (PAGE DL *et al*, 1998; VAN'T VEER *et al*, 2002). Um dos maiores desafios



para o estudo e tratamento do carcinoma de mama é sua heterogeneidade tumoral (PAGE, 2002). A atual classificação histológica dos carcinomas invasivos da mama da Organização Mundial de Saúde representa uma extensa lista da qual os tipos histológicos mais frequentes são o carcinoma ductal invasivo (50% a 75%) e carcinoma lobular invasivo (5 a 15%). Os demais, considerados tipos especiais, são menos frequentes e incluem o carcinoma tubular, mucinoso, medular e metaplásico, entre outros (ROBBINS, COTRAN, 2005).

O grau de diferenciação histológica também é uma medida de grande utilidade na clínica e reflete o potencial de malignidade do tumor, indicando a sua maior ou menor capacidade de metastatização. Segundo a Organização Mundial de Saúde, os tumores classificam-se em: grau I (bem diferenciado), grau II (moderadamente diferenciado) e grau III (pouco diferenciado). A classificação anatomopatológica é insuficiente para caracterizar os carcinomas de mama, uma vez que os tumores com mesmo grau, estágio e tipo histológico podem apresentar diferentes prognósticos e resposta à terapia (REIS-FILHO *et al*, 2006).

Existem fatores para avaliação prognóstica do câncer de mama, sendo considerados importantes o tamanho, o tipo e grau histológico, invasão vascular, o comprometimento dos gânglios linfáticos, índice de proliferação celular, expressão dos receptores hormonais e a superexpressão do fator de crescimento epidermal (HER-2).

Devido à heterogeneidade dos tipos tumorais e suas características morfológicas e dos seus fenótipos, existe uma dificuldade para estabelecer uma relação entre os achados clínicos, prognósticos e o grau de recorrência que pode ocorrer com o passar dos anos após o tratamento adjuvante.



REVISÃO DA LITERATURA



2.1 Epidemiologia

A incidência do câncer de mama apresenta uma grande variabilidade geográfica. As taxas de incidência mais altas foram observadas na América do Norte, na Europa Ocidental e geralmente em países economicamente ricos e desenvolvidos, enquanto são 10 vezes mais baixas a taxas na África, na Ásia e nos países do 3^a mundo (BLACK *et al* 1997; PARKIN *et al*, 1997).

No Brasil, a cada ano, cerca de 22% dos casos novos de câncer em mulheres são de mama. De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), o número esperado para 2010, apresenta uma estimativa de 49.240 novos casos, com um risco estimado de 49 casos para cada 100.000 mulheres. A região Sudeste do País exibe uma das mais altas taxas, com uma estimativa de 65 novos casos a cada 100.000 mulheres, seguida da região Sul com 64 novos casos para 100.000 mulheres. A região Centro-Oeste 38/100.000, a região Nordeste com 30/100.000 e Norte 17/100.000. No que se refere à mortalidade são esperados 11.735 óbitos. No Brasil, a incidência e a taxa bruta de mortalidade têm apresentado um aumento significativo nas últimas décadas, passando de 5,7 para 10,1 mortes por 100.000 mulheres. Isto representou um crescimento de 76% entre os anos de 1979 e 2004 (INCA, 2009).

No Brasil, as taxas de mortalidade são elevadas, devido principalmente, à detecção da doença em estágio avançado (SCHWARTSMANN, 2001), o que demonstra a falta de um programa de rastreamento que inclua a realização de exame clínico das mamas, mamografia anual e a identificação de grupos populacionais com risco elevado para o desenvolvimento da doença (GONÇALVES *et al*, 2007). Estima-se que a sobrevida média na população mundial após cinco anos de doença é de 61%, sendo que essa sobrevida aumenta em 73% nos países desenvolvidos e de 56% nos países em desenvolvimento (INCA, 2009).

Apesar de países desenvolvidos, como os Estados Unidos, terem maior proporção de casos diagnosticado em fase inicial, 40.481 mulheres foram á óbito por câncer de mama no ano de 2008, o que comprova a grande problemática envolvida nesta doença e que o câncer de mama é um problema de saúde pública mundial (AJCC, 2008).

2.2 História natural do câncer de mama

A mama normal apresenta um conjunto complexo de interações entre as células luminais, mioepiteliais, membrana basal e células estromais. Este complexo é dinâmico e exibem modificações fisiológicas próprias da mama, como por exemplo, a formação normal



de novos pontos de ramificação ductal e lobular durante a puberdade, gravidez e algumas fases do ciclo menstrual. A anulação da membrana basal, proliferação aumentada, a perda da inibição do crescimento, angiogênese e invasão do estroma, podem ocorrer durante a carcinogênese, por células epiteliais anormais, células estromais ou ambas (ROSAI, 2011).

As alterações biológicas que ocorrem em células malignas bem sucedidas, estão didaticamente divididas em: alterações ductais iniciais não proliferativas que evolui para uma lesão proliferativa, seguindo-se um processo de hiperplasia atípica, posteriormente para carcinoma “in situ” e carcinoma invasor. Estas alterações não necessitam ocorrer nesta ordem especificamente, porém elas se acumulam até que as células adquiram potencial maligno. A associação das alterações a lesões mamárias pré-malignas sugere que os eventos mais iniciais estejam relacionados à evasão de sinais inibidores do crescimento e da apoptose e auto suficiência dos sinais de crescimento (TLIST, 2001).

A evolução tumoral e a possibilidade de metastatização representam a história natural do câncer de mama. Classicamente, as lesões hiperplásicas evoluem para carcinoma ductal *in situ* e estes para infiltrativos (PAGE; DUPONT, 1990; ROSAI, 2011). Parte dos carcinomas infiltrativos de mama evolui, após longo período, de lesões benignas pré-existentes, passando por lesões precursoras pré-malignas, carcinoma *in situ* e carcinoma microinvasivo (SINGLETARY, 2002). Outros não seguem esta sequência, sendo desde o início carcinoma *in situ* ou invasores, com potencial ou não para metastização (van de VIJVER *et al*, 2002).

O principal fator determinante do ritmo de crescimento tumoral é a percentagem de suas células que estão em divisão durante o ciclo celular (G1,S,G2 e mitose). O tempo de duplicação do câncer de mama é resultado da interação entre a duração do ciclo celular, fração de proliferação e fração de perda celular pós-mitótico. Por meio de análise de casos de câncer submetidos a mamografias com grande intervalo entre o diagnóstico e o tratamento final, pesquisadores estimaram que o tempo médio de duplicação tumoral é de 212 dias. Como também, fazem parte a potencialidade genética, a necrose e apoptose celular, e a reação imunológica sistêmica e local, sendo esses fenômenos mediados por ação hormonal especialmente o estrógeno (YAGER; DAVIDSON, 2003; RUSSO *et al*.2006).

A capacidade de invasão dos tecidos adjacentes é essencial na agressividade desses tumores. Invadir é consequência da mobilidade das células malignas no espaço intersticial, alcançando vasos sanguíneos e linfáticos, o que viabiliza o descolamento das células neoplásicas para outros sítios. O crescimento tumoral é influenciado por muitos fatores,



dentre eles as características morfogênicas da neoplasia que envolve o tipo histológico, o grau de diferenciação tumoral e a neovascularização sanguínea (VENÂNCIO FILHO *et al*, 2010). A principal via de disseminação da célula neoplásica é a linfática, pois além da mama ser muito rica em capilares linfáticos, ocorre ainda neolinfangiogênese peritumoral (AL RAWI *et al*, 2003). As células malignas da mama, começam a migrar para circulação sanguínea em estágios precoces (GAFORIO *et al*, 2003), entretanto a sua habilidade para estabelecer metástase e futura recidiva ainda não está bem esclarecida (RACILA *et al*, 1998). A disseminação metastática a distância compreende várias etapas: embolização intravascular, extravasamento capilar, retenção em determinado órgão, infiltração e reprodução em sítio secundário (BRAUM; NAUME, 2005; DEL GIGLIO; BURGOS, 2005). Uma vez disseminadas, podem formar metástase à distância em vários órgãos sendo o sistema esquelético o local de maior frequência de acometimento com aproximadamente 65% dos casos, seguidos por pulmão, pleura, fígado, ovário, suprarenal e sistema nervoso central incluindo leptomeninges e olhos (CIFUENTES, 2001).

2.3 Fatores de prognóstico

Os fatores de prognóstico permeiam um amplo universo de condição de risco, incluindo desde variáveis como idade do paciente no momento do diagnóstico até um complexo de alterações genéticas identificadas (DHINGO; HORTOBAGYI, 1996) (Quadro 1).

**Quadro 1.** Classificação dos fatores de prognóstico do câncer de mama

Classificação	Características	Fatores
Primeira geração	Fatores anatômicos	1.Tamanho do tumor 2.Comprometimento linfonodal 3.Subtipos histológicos 4.Idade
Segunda geração	Características patológicas	1.Grau histológico 2.Necrose tumoral 3.Ploidia 4.Índice mitótico
	Responsividade endócrina	1. Receptores de estrogênio e progesterona
Terceira geração	Fatores moleculares	1. Amplificadores de oncogenes: neu/C-erb-2 e c-myc 2. Supressores de gens :p53 e nm23
	Proteases	1. Catepsina D
	Outros fatores	1. Fator de crescimento do hepatócito 2. Glicoproteína LA.135
Quarta geração	Preditores de metástase específicos para os diferentes órgãos	1. Micrometástase na colona 2. Polimorfismo de L-myc 3. Vimentin

Fonte: DHINGO; HORTOBAGYI, 1996

Um fator de prognóstico é definido como um parâmetro possível de ser mensurado no momento do diagnóstico e que serviria como preditor da sobrevida ou do tempo livre de doença (EISENBEN; KOIFMANN, 2002).

2.3.1 Tamanho do tumor

Depois do “status” linfonodal, o tamanho tumoral é um consistente e forte fator prognóstico para recorrência à distância. O diâmetro do tumor primário é um fator importante a ser considerado na indicação cirúrgica. Estudos têm demonstrado a relação entre tamanho tumoral e sobrevida (CARTER *et al*, 1989). A recorrência da doença geralmente aumenta com o tamanho tumoral. Um trabalho clássico com portadores de câncer demonstrou que o risco cumulativo de metástase foi de 25% para tumores até 2cm, 35% com 2 e 3cm, 45% com 3 e 4cm e mais de 50% para tumores com 4 e 5cm (ADAIR *et al*, 1974). Os tumores acima de 5cm de crescimento rápido e sem envolvimento linfonodal, pode ter menor probabilidade de metástase. Estudo do *Memorial Sloan-Kettering Cancer Center*, indica que pacientes com tumor menor que 1cm têm taxa de recorrência em 20 anos de 12% (ROSEN *et al*, 1989). O National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSAPB) indica que a chance de metástase à distância com tumores abaixo de 1,0cm era aproximadamente de 10%. Em certos



tamanhos tumorais menores de 1,0 cm, outros fatores podem precisar ser mensurados para refinar o prognóstico desses pacientes. As chances de recorrência aumentam tanto quanto maior for o diâmetro do tumor, que depois dos linfonodos é o principal fator prognóstico (KOSCIELNY *et al*, 1994). O tamanho tumoral é considerado fator independente no câncer de mama (FISHER *et al*, 1984; HENSON *et al*, 1991), e tem grande relevância em pacientes com axila negativa no câncer de mama (ROSEN *et al* 1993; SEIDMAN *et al*, 1995). Embora o tamanho do tumor seja um fator de prognóstico sistêmico, ele não interfere por si só no risco de recidiva local após cirurgia conservadora.

2.3.2 *Envolvimento linfonodal*

A principal via de disseminação das células neoplásicas da mama é a linfática, porque a mama, que já é rica em capilares linfáticos, desenvolve ainda neolinfangiogênese peritumoral (ADAIR *et al*, 1974; CODY *et al*, 1995). A presença ou ausência de metástase dos linfonodos axilares é o mais forte fator prognóstico no câncer de mama. Geralmente existe uma relação direta entre o número de linfonodos com metástase e é associada com o aumento de risco de recorrência local e progressão da doença (GOLDHIRSH, *et al*, 1995). *Breast Center at Baylor College of Medicine in Houston*, demonstrou que a sobrevida da doença, depende da positividade dos linfonodos. Em cinco anos a sobrevida livre da doença em axila negativa era de 80% (HILSENBECK *et al*, 1998). A maioria dos estudos estratifica os linfonodos, em quatro grupos, de acordo com a *National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project* em linfonodos negativos, um a três linfonodos comprometidos, quatro a nove e 10 ou mais (FISHER, 1983). O estado dos linfonodos axilares é muito importante na sobrevida das pacientes. Pesquisadores mostraram que o prognóstico das pacientes com mais de 4 linfonodos positivos é reservado, neste estudo em 1.622 pacientes, mostrou que o valor prognóstico da axila é maior para casos com mais de 10 linfonodos examinados. Quando maior for o número de linfonodos comprometidos, maior será a chance de metastização (SAEZ; MCGUIRE; CLARK, 1989; HILSENBECK *et al*, 1998).

A disseminação metastática nos linfonodos axilares segue, em geral, um padrão regular segundo os níveis anatômicos I, II e III. Veronesi *et al*, encontraram 839 casos de axila comprometida entre 1.446 casos e, desses, 54,2% apresentavam-se comprometidos com nível I; 22,3% com níveis I e II; e 22,2% com níveis I, II e III ou I e III. Somente 1,3% mostraram comprometimento de nível II ou III sem envolvimento do nível I.



Estudos sugerem que a sobrevida em cinco anos para pacientes com linfonodos negativos é de 82,8%, comparado com 73% para aqueles com um a três linfonodos comprometidos, 45,7% para os com quatro a 12 linfonodos e 28,4% para aqueles com 13 ou mais linfonodos atingidos por metástase (FISHER *et al*, 1983). A avaliação do comprometimento axilar tem sido realizada por dissecação axilar ou uso do linfonodo sentinela (LS), esse por sua vez é o primeiro linfonodo a receber metástase na cadeia linfonodal da drenagem dos tumores (VERONESI *et al*, 1993). No estudo do linfonodo sentinela, os cortes seriados destacaram o valor das micrometástase (0,2 mm a 2,0 mm) e seu prognóstico. Além destas, são avaliadas as células tumorais isoladas (agrupamento de até 0,2 mm) e do achado do antígeno de células neoplásicas por imuno-histoquímica. O significado das micrometástase é controverso, embora a maior tendência seja avaliar como um fator de prognóstico negativo, levando a um maior aumento nas chances de mortalidade pela doença comparativamente a axila negativa (KUIJT *et al*, 2005).

2.3.3 *Tipo histológico*

A mama é sede de neoplasias de vários tipos histológicos, embora a grande maioria dos cânceres corresponda ao carcinoma ductal. Estudos sugerem que as pacientes com tumores ductais infiltrativos apresentam maior incidência de linfonodos axilares positivos e prognóstico clínico pior, que as pacientes com outros tipos de tumores infiltrativos menos comuns (ALBAIN *et al*, 1994; ALVARENGA, 2004). Os carcinomas infiltrativos mais comuns são o ductal em torno de 80% e 90% e o lobular em torno de 10 a 15% dos cânceres e parece ter uma biologia distinta. O carcinoma lobular está associado com idade mais avançada, tamanhos maiores, estando associado com baixa fração da fase S, positividade para receptores hormonais e Her-2, p53 e fatores de crescimento negativo (ARPINO *et al*, 2004). Além disso, o carcinoma lobular apresenta maior taxa de bilateralidade e recidiva local (DU TOIT *et al*, 1991). Os carcinomas ductais têm um crescimento local expansivo e tendência à disseminação via ductos locais, porém o carcinoma lobular, cresce de maneira insidiosa, sem um padrão radial, e com tendência a multicentricidade.

Os tumores especiais, com tipo histológico papilar puro, tubular e mucinoso, têm melhor prognóstico comparado com o carcinoma ductal com sobrevida livre da doença em 5 anos em torno de 95% (DIAB *et al*, 1999). Normalmente têm crescimento lento, raramente ultrapassam 4cm e são diferenciados e ricos em receptores hormonais. De excelente prognóstico são também os tumores cribiformes puros.



2.3.4 **Idade**

Em estudo com análise multivariada, as mulheres com idade inferior a 35 anos com câncer de mama, têm pior prognóstico e apresentam aumento de risco de recorrência local em comparação com pacientes mais velhas (NIXON *et al*, 1994, ALBAIN *et al*, 1994), sugerindo ser um fator de risco independente (BANNER *et al*, 1995). Pacientes jovens têm maior densidade do tecido mamário, o que dificulta em muito os exames radiológicos e macroscópico da mama circunjacente ao tumor, no sentido de garantir margens livres e suficientes. Essas pacientes, apresentam maior chance de disseminação intracanalicular a distância, comprometendo o sucesso do tratamento conservador. Como também, as jovens sofrem variações hormonais próprias do menacme, estimulando o tecido mamário que permanece após a cirurgia, tecido este já alterado pelas modificações genéticas inerentes do câncer na mulher jovem. Em dois estudos separados (ALBAIN *et al*, 1994, CROWE *et al*, 1994), as pacientes jovens estão associados com maior prevalência de fatores de adversidade histológica (pobre diferenciação, invasão linfática, componente intraductal extenso). Em adição, o aumento do tumor, linfonodo positivo, receptores hormonais negativos, aumento da fração fase S e anormalidade do p53 são mais comuns em mulheres de 30 para 35 anos. A maior parte dos estudos aponta que nas pacientes jovens, especialmente abaixo de 35 anos, com tumores maiores e comprometimento axilar, apresentam prognóstico ruim, com recorrência precoce, com maior capacidade de metástase à distância e morte (RODRIGUES, 2001).

2.3.5 **Grau histológico**

A graduação histológica representa uma medida da diferenciação celular. Todos os carcinomas invasivos da mama, com exceção do carcinoma medular, devem ser graduados. São vários os sistemas de graduação histológica aplicados ao câncer de mama, desenvolvidos desde 1925, quando Greenhough, pela primeira vez, aplicou a graduação histológica em tumores de mama. Esta graduação aplicado no câncer de mama primário têm demonstrado correlação com risco de metástase à distância. O sistema mais utilizado na avaliação do grau é Scarff, Bloom Richardson (SBR) (ELSTON *et al*, 1991), porém este sistemas sofreu modificação. O SBR, considera o grau de diferenciação tubular, o pleomorfismo nuclear e o índice mitótico. Elston-Ellis modificou o sistema SBR, que também refere ao sistema de Classificação de *Nottingham* (NCHG), que divide os tumores em três variáveis



anatomopatológicas: percentagem de túbulos, grau nuclear (pleomorfismo) e índice mitótico em área microscópica definitiva. Atualmente é o método de avaliação do grau histológico recomendado pelo Colégio Americano de Patologistas (ALLRED *et al*, 1998; ELSTON *et al*, 1991). O tipo histológico da neoplasia mamária está relacionado diretamente com a sobrevida, conforme demonstrado em estudos em séries grandes de pacientes e longo tempo de acompanhamento pós-cirúrgico cerca de 25 anos (DAWSON *et al*, 1982). Os tumores de alto grau são associados com altas taxas de metástases (LE DOUSSAL *et al*, 1989). O grau histológico é um fator de prognóstico independente, de validade extensamente comprovada. Na graduação histológica de *Nottingham Combined Histologic Grade* (NCHC) proposta por Elston e Ellis (1991) é tradicionalmente expressa em 3 categorias de diferenciação: I) bem diferenciado (somatório final de 3 a 5) baixo grau; II) moderadamente diferenciado (somatório final de 6 a 7) grau intermediário; III) pouco diferenciado (somatório final de 8 a 9) alto grau. Essa classificação baseia-se na soma da pontuação para determinados critérios (formação tubular, pleomorfismo nuclear e contagem mitótica em 10 campos de grande aumento) (BARROS; BUZAID, 2007). Um sistema de escore de 1 a 3 é dado para cada um desses parâmetros avaliados separadamente. A sobrevida em 20 anos, entre pacientes com neoplasias Graus I, II e III (SBR), é estimada em, respectivamente, 41, 29 e 21% (HUTTER *et al*, 1990).

Muitos estudos têm também avaliados outros fatores histológicos, como a presença de extensão do carcinoma ductal “in situ” (DCIS), invasão linfática, necrose tumoral e células inflamatórias os quais têm demonstrado serem associados a pior prognóstico. A presença de invasão linfovascular é significativamente associado com a presença de linfonodos axilares, tumores grandes, desenvolvimento de metástase à distância, recorrência regional, pior intervalo livre da doença e sobrevida global (MOHAMMED *et al*, 2007).

2.3.6 *Receptores hormonais*

Os receptores hormonais indicam a presença ou não dos receptores nas células tumorais (HARVEY *et al*, 1999). Os receptores de estrógeno (RE) e progesterona (RP) têm sido rotineiramente estudados no câncer de mama desde 1970 (JORDAN *et al*, 1996). Os tumores que contém receptores positivos têm melhor prognóstico e vão obter benefícios com hormonioterapia (CLARK, 1996; HURSOUTY, 1996). Os receptores são considerados, tanto fatores prognóstico quanto fatores preditivos a resposta terapêutica. É possível afirmar, que a positividade RE e RP seja apenas indicativo de tumores mais indolentes, com menor

velocidade de crescimento e longo período para recorrência da doença. O RE atua como regulador do crescimento epitelial nas células mamárias, com papel importante na maturação do tecido, no desenvolvimento e na progressão do câncer de mama. Sua expressão se correlaciona com baixo grau histológico, sendo alvo de tratamento e importante marcador preditivo de resposta clínica a terapia hormonal. Os estrogênios são reconhecidos como agentes estimuladores da proliferação celular mamária. Os tumores que respondem a terapia hormonal expressam altos níveis de receptores de estrógeno (EISEMBERG, 2001; ALLEMANIC *et al*, 2004).

A avaliação dos receptores (RE/RP) é feita pelo método de imunoistoquímica, que apresenta escore de proporção de células positivas de 0 a 5 e um escore de intensidade da positividade de 0 a 3. Quando a soma dos valores for maior que 2, o teste será positivo ou quando a percentagem de células for superior a 1% (HAMMOND *et al*, 2010). A imunoistoquímica é uma reação química realizada no tecido, baseada na determinação de antígenos celulares específicos ou proteínas e produtos protéicos através de interação antígeno-anticorpo. É altamente específica, pois anticorpos pré-determinados reagirão contra antígenos ou proteínas do tecido alvo, a serem pesquisados. A partir daí, são utilizados substâncias colorigênicas (cromógeno) que mudam a cor quando a reação acontece. Esta marcação é observada e avaliada nos locais da célula em que sua localização é esperada, ou seja, núcleo, citoplasma e membrana. Dessa forma, conseguem-se determinar a positividade ou negatividade da reação (HARVEY *et al.*, 1999). Figura 1.

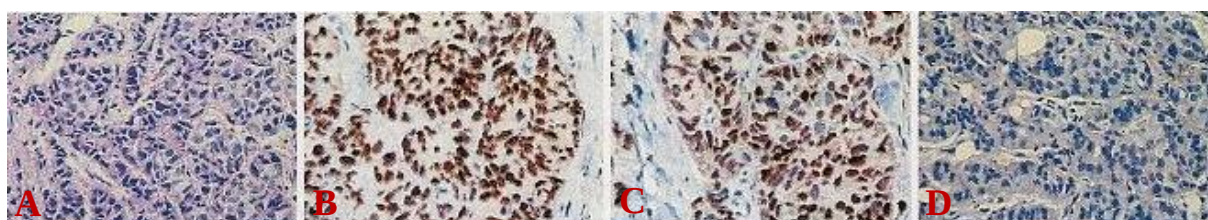


Figura 1. Marcadores. A) Receptor de estrógeno; B) Receptor de progesterona; C) Her-2; e D) Ki-67 I

(Fonte: DAKO 2010).

O exame imunoistoquímico tornou-se um método auxiliar de diagnóstico, determinação de prognóstico e planejamento terapêutico de extrema importância e utilidade pelo seu custo relativamente baixo e, sobretudo por ser realizado em material embebido em parafina. A imunoistoquímica tornou-se um estudo de biologia molecular ao alcance de todos (YEH I-TIEN; MIES, 2008).



Pouco se sabe sobre a ação isolada da progesterona sobre a mama. O valor prognóstico do receptor de progesterona isolado é controverso e tem pouca utilidade (STIERER *et al*, 1995). A proliferação celular induzida pelos estrogênios é maior quanto este estímulo ocorre simultaneamente a progesterona. Esta progesterona apresenta um mecanismo semelhante ao estradiol e existem proteínas receptoras de progesterona, que são pesquisadas por imunoistoquímica (NAVARRETE *et al*, 2005).

2.3.7 **Oncogene Her-2**

É um proto-oncogene considerado fator preditivo e prognóstico do câncer de mama. A presença de grande quantidade da proteína Her-2 na membrana celular, a partir do gene do mesmo nome localizado no cromossomo 17q21 que codifica a síntese da proteína cerb-2 de 185-KDa (p185^{her-2}), que é um dos receptores transmembrana homólogo ao receptor do fator de crescimento epidermal (egfr) (KOBAYASHI *et al*, 2002). A ligação deste receptor acarretará a transmissão de um sinal para a ativação da tirosina quinase intracelular e esta enzima fosforila outras tirosina-cinases que irão transmitir os sinais para proliferação, migração, adesão e transformação celular (LEE *et al*, 2004). Consequentemente, a ativação anômala do gene "erb-2" terá como consequência a exacerbação das funções sinalizadas pela proteína cerB-2. A superexpressão está associada a uma maior agressividade tumoral, taxas de recorrência mais altas e maior mortalidade em pacientes com linfonodos positivos. A proteína Her-2, quando ligada aos fatores de crescimento tumoral, inicia uma cascata de reação que promovem divisão celular e, consequentemente, crescimento do tumor. O Her-2 tem sido extensamente estudado em carcinoma de mama, desde que se foi demonstrada associação entre a amplificação do gene e mau prognóstico. Uma vez ativados na forma de oncogenes Her-2, podem ser iniciadores ou promotores da carcinogênese. O Her-2 estimula a proliferação tumoral, a angiogênese e a capacidade de metastatização. A amplificação do gene está descrita em 10 a 40% do câncer de mama. De acordo com alguns pesquisadores as pacientes cujos tumores exibem expressão aumentada de Her-2, apresentam uma menor sobrevida (SLAMON *et al*, 1987; MITTRA *et al*, 1995). O Her-2 é avaliado através de um escore que vai de 0 a 3. De 0-1 é considerado negativo, 2 é considerado indeterminado e o escore 3 é considerado positivo. Este último tem valor preditivo para uso do trastuzumabe. No escore 2, está indicado o estudo através do FISH, que serve para identificar a existência de amplificação do gene (WOLFF AC, *et al* 2007)

Interpretação do escore do Her-2:

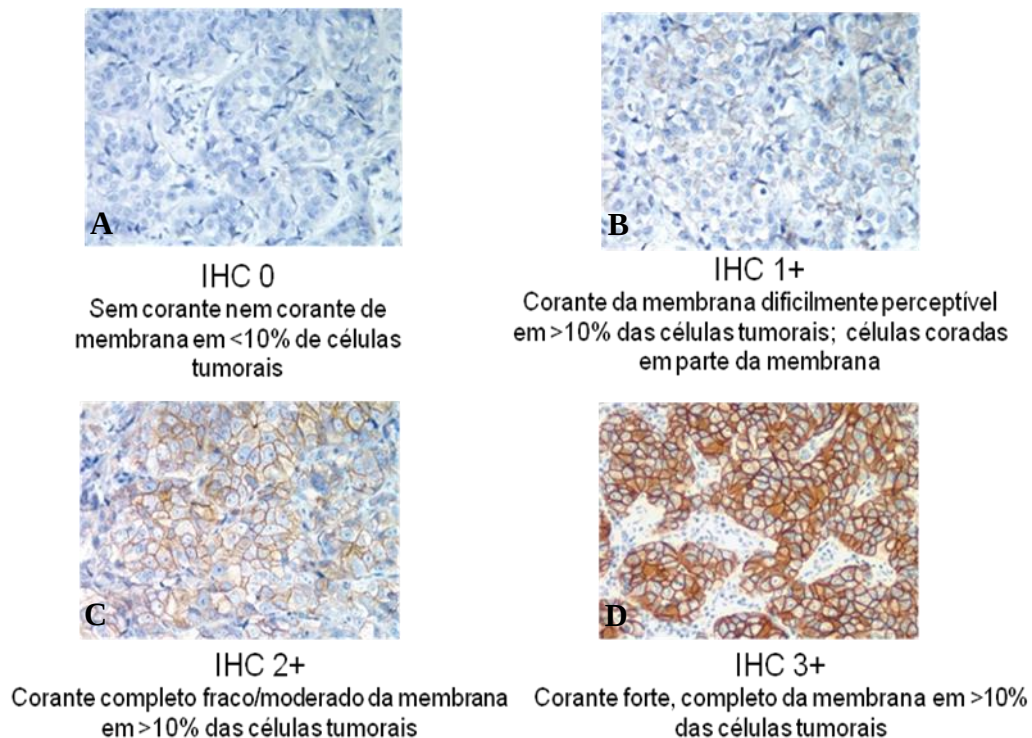


Figura 2. Interpretação do Her-2 (Fonte: DAKO 2010)

A avaliação da expressão da proteína do HER2 no câncer de mama, pode ser feita pelo método imunoistoquímico. Na rotina da pesquisa cirúrgica, é possível utilizar marcadores imunoistoquímicos adequados para pesquisar proteínas relacionadas com os perfis de expressão gênica (PEROU *et al*, 2000). Entre os métodos mais utilizados para diagnosticar o Her-2, estão às avaliações que utilizam ácido nucléico, como por exemplo, *Southern blot*, *Northern blot*, PCR, *Fluorescence in situ Hybridization* (FISH) e métodos que quantificam a expressão da proteína como *western blot* e imunoistoquímica. Na avaliação histológica de biópsia ou de ressecção cirúrgica a imunoistoquímica é a técnica mais utilizada na rotina, por ser mais simples, rápida e de baixo custo (KAKAR *et al*, 2000).

O Her-2 atua como co-receptor dos fatores de crescimento múltiplos. (HAYES, *et al*, 2002).. A classificação de positividade do Her-2 é muito importante no contexto atual do tratamento do câncer de mama. O Her-2 é considerado um fator prognóstico por estar associado com maior agressividade tumoral, menor sobrevida global e menor sobrevida livre de doença, com aumento do risco de recidiva precoce (JOHNSON-THOMPSON; GUTHRIE, 2000). Além disso, estudos clínicos mostraram que o Her-2 expresso ou amplificado está associado com vários fatores de mau prognóstico, como receptor hormonal negativo, tumor



indiferenciado, fração “S” elevada, linfonodo comprometidos e mutação do p53 (HORTOBAGYI, 2000).

A superexpressão da proteína Her-2/neu em pacientes linfonodos negativos tem sido correlacionada com recorrência da doença e metástase (PRESS *et al* ,1997). A avaliação do “status” da Her-2/neu só ou em combinação com outros fatores de prognósticos, talvez identifique o risco de recorrência em pacientes linfonodo-negativos, e então o tratamento pode ser individualizado (KAKAR *et al* ,2000).

O câncer de mama triplo negativo são aqueles que, somados a uma macro e micromorfologia características são negativos para RE, RP e para a proteína do fator do crescimento epidérmico humano 2 Her-2. É caracterizado por distinção molecular, histológica e características clínicas, com prognóstico desfavorável. Esses tumores inicialmente apresentam alto grau nuclear e histológico (O GLUZ *et al* , 2009). O triplo negativo representa 15 % dos tipos de câncer mamário e ocorre mais comumente em mulheres negras e hispânicas do que em caucasianas, e em mulheres na pré-menopausa (BROWN *et al* 2008). Além destas características, mais de 75% das mulheres que apresentam mutação do gene BRCA1 tem câncer de mama com fenótipo triplo negativo (RAKHA *et al* , 2008).

O valor da amplificação de Her-2 se mostrou independente quando comparado a outros fatores de prognósticos importantes, como estado dos linfonodos, tamanho tumoral e presença ou ausência de receptores hormonais. Esse valor foi superior aos outros fatores comparados e comumente utilizados (tamanho do tumor, estado dos receptores hormonais e idade no momento do diagnóstico), sendo considerado semelhante e independente em relação ao melhor fator prognóstico, que é o número de linfonodos axilares comprometidos (SLAMON *et al*,1987). A sua determinação é fundamental, tendo em vista seu valor prognóstico e também preditivo de resposta ao tratamento com o anticorpo monoclonal trastuzumabe associado com quimioterapia, seja nas formas adjuvante ou paliativa para doença metastática. O transtuzumabe na adjuvância, conforme demonstrado em cinco estudos clínicos randomizados (HERA, NSABP B31, NCCTG N9831, BCIRG 006 e FIN HER), envolvendo 13.353 pacientes, reduz o risco relativo de recidiva em aproximadamente 50% e o risco de morte em 30 %. O Trastuzumab (Herceptin) é um anticorpo monoclonal humanizado ao Her-2/neu desenvolvido especificamente para células alvo tumorais, não afetando as células normais (BARROS; BUZAID, 2007).



2.3.8 Fatores indicativos de proliferação

Os fatores indicativos de proliferação celular utilizados rotineiramente na prática clínica são o índice mitótico, timidina e fases S, Ki-67 e P53. Quanto maior o índice mitótico, maior será a taxa de proliferação celular e pior o prognóstico (BOFF, 2006). A atividade proliferativa dos tumores é um bom indicador de resposta a quimioterapia (COLECCHI, *et al*, 1998).

A fase S avalia percentual de células tumorais que se encontram em replicação ou síntese celular pela quantificação do DNA. É possível se determinar qual a porcentagem de células de um tumor que se encontram na fase S (síntese de DNA) do ciclo celular. Vários estudos demonstraram a associação entre a fração de fase S e prognóstico. Estudo do NSABP-14 (FISCHER, 1983), demonstrou que tumores em fase S aumentada, tiveram maior taxa de recorrência e mortalidade (WENGER *et al*, 1993; BAMORJCE *et al*, 2004). A fração da fase S é um marcador promissor, mas ainda não é utilizado rotineiramente na prática clínica.

O Ki-67 é um anticorpo monoclonal, encontrado no cromossomo 10. É uma proteína expressa nas células em divisão nas fases G1, S, G2 e M do ciclo celular e está ausente na fase G0. Considera-se que a coloração positiva de mais de 10% das células tumorais que expressam Ki-67 significa alta proliferação, e diversos estudos verificaram pior prognóstico neste caso. Em análise multivariada, Ross *et al*, 2005, mostraram que só em sete deles a expressão de Ki-67 representou um fator prognóstico independente dos 19 estudados, mas que, em 17, representou fator negativo em análise univariada. O Ki-67 tem relação direta com o tamanho tumoral, grau histológico, invasão vascular e status axilar. Por outro lado, tem relação inversa com os níveis de receptores hormonais. O Ki-67 se relaciona com aneuploidia, período livre de doença e sobrevida (MOLINO *et al*, 1997).

A proteína p53, codificado pelo gene TP53, localizada no braço 17 do cromossomo, participa do controle da divisão celular, da apoptose, do reparo do DNA lesado, da diferenciação celular e da angiogênese. O P53 é um gene de supressão tumoral, que tem função de preservar a integridade do genoma e a proliferação celular. Sua ação ocorre por bloquear as células nas fases G1 e S, e induzir à apoptose. Representa o defeito genético dos cânceres e está presente em 14 a 26% dos cânceres de mama, dependendo dos critérios de positividade. A superexpressão de P53 está associada a 1/3 dos carcinomas da mama e apresentam um alto grau histológico e maior agressividade clínica, levando a um menor tempo livre e sobrevida global (CATTORETTI *et al*, 1988). Muitos estudos apontaram que a



imunoexpressão da proteína p53 reflete o gene alterado sendo um fator negativo de prognóstico, inclusive na axila negativa (ALLRED *et al*, 1993).

Pode-se afirmar, que o perfil molecular dos tumores primários de mama está associado a comportamentos mais ou menos agressivos das neoplasias. A sua detecção e quantificação pode ajudar a diferenciar grupos de pacientes de risco aumentado e influenciar decisões terapêuticas. Os tumores primários com receptores negativos, que expressam p53, c-erb-2, estão significativamente associados a menor sobrevida (CHANJ *et al*, 2003).

2.3.9 **Estadiamento**

O estadiamento tumoral é critério utilizado para determinar o tipo de tratamento, ou seja, para definir escolha terapêutica adotada para cada paciente. O estadiamento patológico requer exame de espécime tissular, do tumor primário, linfonodos axilares e outros sítios distintos, para confirmar a presença do tumor e tamanho da lesão (TAVASSOLI, 2003). Esse estadiamento para cânceres de mama segue a classificação de tumores malignos (TNM) que proporciona algumas características da doença que derivam de indicadores prognósticos (VERONESI *et al*, 2006). Autores chamam a atenção para a necessidade de se adaptar a atual classificação dos carcinomas de mama, adicionando informações relevantes que possam modificar as decisões terapêuticas (PAREDES *et al*, 2006; TURNER, REIS-FILHO, 2006; DUNKLER; MICHIELS; SCHEMPER, 2007).

O principal propósito a ser conseguido pela concordância internacional na classificação dos casos de câncer pela extensão da doença é fornecer um método que permita comparações entre experiências clínicas sem ambiguidade. Além disso, o estadiamento ainda nos fornece dados sobre implementação de uma nova técnica de diagnóstico ou de tratamento.

O sistema TNM é utilizado para descrever a extensão anatômica da doença tendo por base a avaliação de três componentes (Quadros 2 e 3):

T	extensão do tumor primário
N	ausência ou presença e extensão de metástase em linfonodos regionais
M	ausência ou presença de metástase á distância
Novos aspectos do estágio tumoral: Devido ao crescimento no uso da mamografia e a grande heterogeneidade em tumores pequenos, novos critérios têm sido introduzidos no sistema TNM:	
1. Micrometástase (0,2 para 2mm) são distinguidas de forma isoladas nas células tumorais (menor 0,2 mm) na base tumoral; 2.Têm sido adicionado o uso da dissecação do linfonodo sentinela,imunohistoquímica ou técnicas moleculares; 3.Maior classificação do status dos linfonodos são designados de acordo com o número de linfonodos envolvidos e determinados pela técnica de HE ou IHC; 4.Envolvimento do linfonodo infraclavícula têm sido adicionado N3; 5.Metástase da mamária interna têm sido reclassificada,baseado no método de detecção e presença ou ausência de linfonodos axilares. Envolvimento microscópico detectado pelo linfonodo sentinela-N1, envolvimento macroscópico sem envolvimento de imagem ou clínico-N2. Porém, se tiver envolvimento axilar é N3; e 6. Metástase de nódulo supraclavicular é classificado de N3	

**Quadro 2.** Sistema TNM para estadiamento do câncer de mama

Classificação Patológica (TNM)	
pT- Tumor primário	
TNM	Descrição
pTx	Tumor primário não pode ser avaliado
pTo	Não há evidência de tumor primário
pTis	Carcinoma “in situ” Carcinoma ductal “in situ” Carcinoma lobular “in situ” Doença de Paget do mamilo sem tumor associado. Quando presente o tumor é classificado de acordo com tamanho da lesão.
pT1	Tumor menor ou igual a 2 cm
pt 1mic	Carcinoma microinvasor
pt 1a	Tumor maior que 0,1 e menor ou igual a 0,5 cm
pt 1b	Tumor maior que 0,5 e menor ou igual a 1 cm
pt 1c	Tumor maior que 1 cm e menor ou igual a 2 cm
pT2	Tumor maior que 2cm e menor ou igual a 5 cm
pT3	Tumor maior que 5cm
pT4	Tumor de qualquer tamanho com extensão para:
pt4a	Parede torácica
pt4b	Edema e ulceração da pele
pt4c	4a+4b
pt4d	Carcinoma inflamatório
pN-Linfonodos regionais	
p Nx	Linfonodos regionais não podem ser avaliados
p No	Ausência de metástase para linfonodos regionais
p N1	
p N1mi	Micrometástase (maior que 0,2 mm e menor ou igual a 2mm) em a axila ou cadeia mamária interna)
p N1a	Um a três linfonodos axilares ipsilaterais comprometidos,incluindo pelo menos uma metástase maior que 2mm
p N1b	Linfonodos da mamária interna com metástase microscópica indentificada em linfonodo sentinela.
p N1c	Um a três linfonodos axilares comprometidos, incluindo pelo menos uma metástase maior que 2mm e linfonodos da mamária com metástase microscópicas em linfonodo sentinela.
p N2	
p N2a	Quatro a nove linfonodos axilares comprometidos, incluindo pelo menos uma metástase maior que 2mm
p N2b	Linfonodos da mamária interna, clinicamente aparentes, na ausência de comprometimento axilar
p N3	
p N3a	10 ou mais linfonodos axilares comprometidos, incluindo pelo menos uma metástase maior que 2mm
p N3b	Linfonodo infra-clavicular ipsilateral comprometido Linfonodos da mamária interna clinicamente comprometidos, na presença de comprometimento de linfonodos axilares Mais de três linfonodos axilares comprometidos e linfonodos da mamária interna com metástase indentificada em linfonodo sentinela.
p N3c	Linfonodos supra-clavicular ipsilateral comprometido
p M-Metástase á distância	
p Mx	Metástase á distância não pode ser avaliada
p Mo	Ausência de metástase á distância
p M1	Presença de metásase á distância

Fonte: AMERICAN JOINT COMMITTEE ON CANCER, 2010

**Quadro 3.** Estadiamento do câncer de mama segundo o sistema TNM

Estádio	T	N	M
Estádio 0	Tis	N0	M0
Estádio I A	T1	N0	M0
Estádio I B	T0	N1mi	M0
	T1	N1mi	M0
Estádio IIA	T0,T1,T2	N0,N1	M0
Estádio IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Estádio IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1,N2	M0
Estádio IIIB	T4	N0,N1,N2	M0
Estádio IIIC	Qualquer T	N3	M0
Estádio IV	Qualquer T	Qualquer N	M1

Fonte: AMERICAN JOINT COMMITTEE ON CANCER, 2010



PACIENTES E MÉTODOS



3.1 Local do estudo

O estudo foi realizado através da análise de prontuários e do exame imunoistoquímico de pacientes atendidas no Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena, com diagnóstico de carcinoma mamário: nas quais foram realizadas diferentes tipos de cirurgia desde conservadora (quadrantectomia ou oncoplastia) a radicais, dependendo do seu estadiamento. Este estudo foi realizado no período de julho de 2009 até julho de 2010. O exame imunoistoquímico (receptores hormonais e status do HER-2), foi realizado no Imunopat, laboratório privado de imunoistoquímica, que também presta serviço a pacientes do SUS.

O Hospital Barão de Lucena (HBL) é um estabelecimento de saúde de alta complexidade, nível terciário do Sistema Único de Saúde (SUS) vinculado ao governo estadual e em processo de municipalização. O HBL é um hospital-escola que possui programas de Residência Médica, de Enfermagem e de Nutrição em quase todas as áreas da especialidade em saúde: mastologia, pediatria, tocoginecologia, cirurgia geral, clínica médica, colo-proctologia, cirurgia vascular entre outros. Possui ainda programas de Internato para estudantes de medicina e enfermagem.

3.2 População do estudo

Pacientes do sexo feminino, portadoras de câncer de mama invasivo, com idade variando de 20 até 70 anos de idade que foram atendidas e submetidas a cirurgia no Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena, com carcinoma mamário no período entre julho de 2009 e julho de 2010, constituindo um total de 211 mulheres.

3.3 Desenho do estudo

É um estudo retrospectivo, descritivo, observacional, transversal realizado por meio de dados coletados de prontuários.

3.4 Critérios e procedimentos para seleção dos pacientes

3.4.1 Critérios de inclusão

- ❖ Ser paciente operado no HBL devido a carcinoma mamário;



- ❖ Ter sido realizada a análise imunoistoquímica dos receptores hormonais (RE e RP) e do status do Her-2.

3.4.2 Critérios de exclusão

- ❖ Prontuários nos quais não constavam resultados de exames de imunoistoquímica para receptores hormonais e de Her-2;
- ❖ Biópsias de pacientes operadas devido recidiva tumoral e/ou daquelas submetidas a QT neoadjuvante.

3.5 Definição das variáveis

As variáveis estudadas foram: cor da pele, idade, tamanho do tumor, comprometimento axilar, estadiamento pós-operatório pelo critério TNM, tipo histológico, positividade ou não para proteína receptora de estrogênio e progesterona, como também para superexpressão da proteína Her-2, fenótipos típicos dos subtipos moleculares, mamografia e ultrassonografia, tipo de procedimento cirúrgico e recorrência.

1. *Pele*: tipos reativos de pele segundo escala de Fitzpatrick, para pele branca e negro com câncer de mama;
2. *Idade*: até 40 anos completos, de 41 a 70 anos e acima de 90 anos;
3. *Tamanho do tumor*: avaliação em centímetro de forma continua: T1 até 2cm; T2 de 2,1 até 5cm e T3 acima de 5,1cm;
4. *Comprometimento axilar*: medido de forma continua, agrupadas em: N0 – sem comprometimento axilar; de 1 a 3 linfonodos comprometidos; de - 4 a 9 linfonodos comprometidos; e acima de 10 linfonodos comprometidos;
5. *Estadiamento patológico*: avaliação do tamanho do tumor, de comprometimento axilar e metástase a distância, pelos critérios de anatomia patológica da UICC (p TNM)
6. *Tipo histológico*: 1. Ductal; 2. Lobular; 3. Outros (medular, tubular, apócrino, adenoidecístico, secretório, cribriforme);
7. *Receptores hormonais*: Receptores de estrogênio e de progesterona (positivo/negativo);
8. *Her-2*: 0 a 1+ = negativo, 2+ = indeterminado (FISH necessário), 3+ = positivo;

9. *Fenótipos sugestivos dos subtipos moleculares*: Luminal A = receptores positivo e Her-2 negativo, Luminal B = receptores e Her-2 positivos, superexpressão de Her-2 = receptores negativos e Her-2 positivo, Basal = triplo negativo;
10. *Mamografia*: foram avaliadas pela classificação do BI-RADS: 0=necessita de investigação complementar, 1 = normal, 2 = achados benignos, 3 = provavelmente benignos, 4= achados suspeitos e 5 = altamente suspeitos;
11. *Tipo de cirurgia*: Cirurgia conservadora (quadrantectomia ou oncoplastia) e Mastectomia. Realizada avaliação do linfonodo sentinela ou esvaziamento axilar;
Recorrência: se teve recorrência (local) ou metástase.

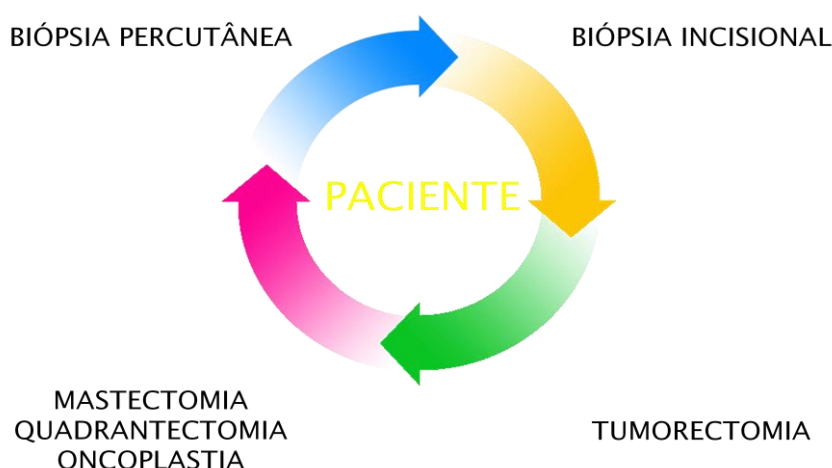
3.6 Método de coleta

Foram estudadas 211 biópsias de pacientes portadoras de câncer de mama, arquivadas em blocos de parafina durante um período de julho de 2009 até julho de 2010. Os blocos de parafina espécimes provenientes de biopsias ou peças cirúrgicas, fixadas em formalina a 10% e arquivadas, foram seccionados na espessura de 4µm, em micrótomo sendo os recortes montados em lâminas histológicas desparafinizada e submetidos a coloração com hematoxilina-eosina (HE) para confirmação histopatológica pelo patologista.

Após confirmação, foram obtidos novos recortes histológicos para realização do exame imunohistoquímica onde foram pesquisadas a expressão dos receptores hormonais (RE, RP) e da proteína proto-oncogênica Her-2 neu.

Técnicas utilizadas para obtenção da amostra:

Figura 3. Técnicas utilizadas para obtenção da amostra



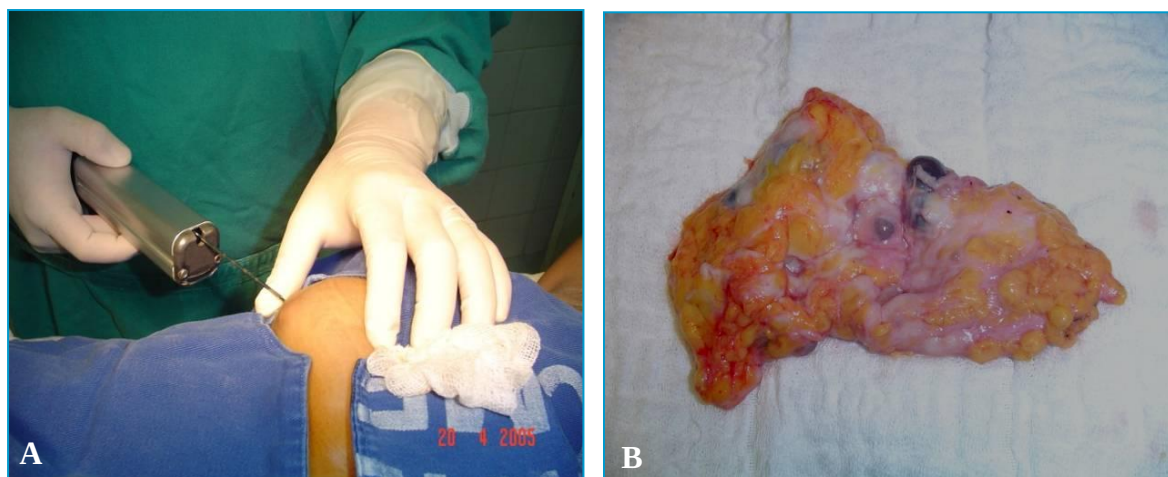


Figura 4. Método de coleta do material : A) Biópsia percutânea; e B) Peça operatória

❖ *Preparação dos cortes histológicos para o exame imunoistoquímico*

Os cortes histológicos de 3µm de espessura foram montados em lâminas histológicas silanizadas e após 12 horas colocados em estufa a 50°C por uma hora. Após essas etapas, foram desparafinados com xileno, hidratados em soluções decrescentes de álcool e lavados em água destilada.

As lâminas foram deixadas em solução detergente neutro 10% por 2 horas, lavadas em água corrente até retirar todo excesso e imersas sequencialmente em cubas com acetona: 1ª cuba :acetona P A (acetona para análise-pura); 2ª cuba: silano (3-aminopropiltietoxi-silano) a 6% diluído em acetona P.A; 3ª cuba: três mergulhos; 4ª cuba: três mergulhos; 5ª cuba: deixa 1 minuto e depois secar na estufa por 10 minutos.

❖ *Recuperação antigênica*

As lâminas com os cortes histológicos foram incubadas em tampão citrato pH 6,0 por 20 minutos ou TRIS EDTA ph 9,0 a 95°C por 1 hora em panela a vapor. A recuperação antigênica foi realizada por calor úmido.

❖ *Reação imunoistoquímica*

1. Inibição da peroxidase endógena (lavagem com água destilada e oxigenada);
2. Colocação dos reagentes (anticorpos) monoclonal e/ou policlonal por 30 minutos. O anticorpo utilizado para receptor de estrógeno foi o clone ER-ID5 (DAKO, 2005),



para o receptor de progesterona foi utilizado o clone PGR 636 (DAKO, 2005) e para proteína do Her-2/NEU foi o POLICLONAL (DAKO, 2005). Foi utilizado a técnica da Estreptavidina-Biotina-Marcada (LSAB+) ou Envision.

3. Lavagem em água destilada, contracoloração com hematoxilina, desidratação, montagem e leitura

3.7 Análise estatística

Os dados foram analisados pelo pesquisador, um estatístico e seu orientador, anotados e computados em formulários específicos (APÊNDICE A) e analisados através de estatística descritiva e estudo de associação através do teste Qui-quadrado e Fischer. Em todos os casos, foi considerado como nível de significância para rejeição da hipótese nula em valor de $p < 0,05$.

3.8 Considerações éticas

Foram seguidos os preceitos éticos determinados pelo Conselho Nacional de Saúde da resolução 196/96 que regulamenta as diretrizes de pesquisa envolvendo seres humanos. Este projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital do Câncer de Pernambuco para apreciação e parecer tendo sido aprovado em 21.06.2010 de nº 18/2010 – CAAE 24.11.0.000.447.10. Obteve-se carta de anuência do Hospital Barão de Lucena autorizando utilização dos prontuários e blocos e lâminas histológicas para fins de dissertação (ANEXO A). O presente estudo não apresentou risco de constrangimento aos pacientes e não foi necessário o termo de consentimento livre e esclarecido, pois será retrospectivo através da análise das informações contidas nas respectivas relatórios anamopatológico originais do HBL. Não ocorreu qualquer agressão à integridade física dos pacientes, pois todas as amostras biológicas a ser estudadas foram provenientes do arquivo do hospital.



RESULTADOS

4.1 REVISÃO SISTEMÁTICA

ARTIGO SISTEMÁTICO

Descritores

Neoplasias de mama
Imunoistoquímica
Prognóstico

Keywords

Breast neoplasms
Immunohistochemistry
Prognosis

Avaliação do impacto do status dos receptores hormonais e da proteína Her-2 no prognóstico do câncer de mama

Impact assessing of immunohistochemical hormone receptor status and Her-2 in breast cancer prognosis

Darley de Lima Ferreira Filho¹, Nancy Cristina Ferraz de Lucena Ferreira²,
Guacyra Magalhães Pires³, Maria Juliana Galvão Nunes⁴, Maria do Carmo Abreu e Lima⁵

RESUMO

O câncer de mama é o principal tipo de câncer que atinge as mulheres. São mais de um milhão acometidas, com estimativa de 410 mil mortes por conta da doença em um período de um ano. O objetivo do presente estudo é estabelecer, por meio da revisão da literatura, o papel da imunexpressão dos receptores hormonais e da proteína do Her-2 no prognóstico e na resposta terapêutica do câncer de mama. Foi realizada uma revisão sistemática, com busca de artigos nas bases Pubmed *National Library of Medicine*, *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), *Science Based Medicine* e *Medline Health Information from National Library of Medicine*. Foram excluídos os artigos de revisão e estudos experimentais com animais. Encontraram-se 1.300 artigos no Pubmed, 711 no Medline, 415 no Science Medic e 139 no SciELO, totalizando 2.255 documentos. Destes, selecionaram-se 18 trabalhos para a revisão. Conclui-se que o estudo imunohistoquímico tem grande importância na avaliação prognóstica e preditiva do câncer de mama, porém os estudos ainda são muito controversos. Existe necessidade de acompanhamento maior das pacientes e de correlacionar esses dados com fatores clínico-patológicos.

ABSTRACT

Breast cancer is a major cause of cancer related death in women, with more than one million new cases and as often as 410 thousands deaths in one year. The object of this study is confirm if there is a correlation of immune-histochemistry (hormonal receptors and Her-2) and prognostic of breast cancer. We carried out a systematic review on Pubmed, SciELO, Science Medic and Medline and excluded the review with animals or research that didn't evaluate the effects of immune-histochemistry in prognostic breast cancer. We discovered 1,300 systematic reviews in Pubmed, 711 in Medline, 415 Science Medic and 139 SciELO with 2,255 articles. Among 2,255, we selected 18. We may conclude there is a great importance in a correlation of the immunohistochemistry and the prognostic breast cancer, but the articles are very controversial. We need to have a follow-up with these patients for a long time and better evaluation with clinic-pathologic factors.

Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena – Recife (PE), Brasil.

¹ Chefe do Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena – Recife (PE), Brasil.

² Médica-assistente do Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena – Recife (PE), Brasil.

³ Oncologista Clínica, Mestranda em Patologia pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife (PE), Brasil.

⁴ Mestranda em Patologia pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife (PE), Brasil.

⁵ Professora Associada do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife (PE), Brasil.

Correspondência: Darley de Lima Ferreira Filho – Edifício Costa Azavedo – Avenida Rosa e Silva, 7072502 – Afogados – CEP 52020-220 Recife (PE), Brasil. E-mail: darleylima@bol.com.br

Recebido em: 22/04/2011. Aceito com modificações em: 22/07/2011

Introdução

O câncer de mama é a neoplasia mais comum entre as mulheres e sua incidência e mortalidade vêm aumentando^{1,2}. Nos últimos anos, pesquisas possibilitaram avanços no diagnóstico e tratamento, porém o problema ainda é devastador^{4,5}. Estudos epidemiológicos estimam a ocorrência de 1 milhão de casos de câncer de mama e que cerca de 9% das mulheres desenvolverão a doença durante suas vidas. A maior parte dos casos ocorre em países desenvolvidos, tendo a Holanda a maior incidência (90,2/100.000), seguida pelos Estados Unidos, com coeficiente de até 86,9/100.000⁶.

Devido à heterogeneidade dos tipos histológicos tumorais e do seu perfil imunohistoquímico e genético, existe dificuldade para estabelecer relação entre os achados clínicos e os dados considerados de valor prognóstico no grau de recorrência após o tratamento adjuvante⁷⁻⁹.

Estudos têm claramente demonstrado o valor prognóstico e/ou preditivo do exame histopatológico e imuno-histoquímico no manejo clínico terapêutico do câncer de mama. São considerados particularmente importantes na definição do prognóstico os parâmetros histopatológicos representados pelo diâmetro tumoral, tipo e grau histológico, invasão vascular e status axilar, e como fatores prognósticos/preditivos o status dos receptores hormonais e da proteína Her-2 por imunohistoquímica¹⁰. Os casos de Her-2 indeterminado(2+) pelo exame imunohistoquímico devem ser avaliados pela hibridização *in situ* (FISH; CISH)¹¹. No entanto, nas regiões Norte-Nordeste não há estudos institucionais correlacionando essas características com o estadiamento e a evolução clínica, inclusive muitos pacientes não têm, sequer, acesso ao exame imuno-histoquímico pelo SUS.

O objetivo desta revisão sistemática é estabelecer as implicações prognósticas/preditivas dos fatores imuno-histoquímicos (RE - receptor de estrogênio, RP - receptor de progesterona e Her-2 - fator de crescimento epitelial humano) no câncer de mama e verificar se há diferença na evolução clínica dos casos triplo-negativos (negativo para RE, RP e Her-2) quanto ao imunofenótipo basal-like e não basal.

Metodologia

Realizou-se revisão bibliográfica nas bases de dados Pubmed, National Library of Medicine, Scielo (Scientific Electronic Library Online), Sciencedirect (Science Based Medicine) e Medline Health Information from National Library of Medicine, empregando-se a palavra-chave primária "câncer de mama", seguida das palavras-chave secundárias "imuno-histoquímica", "receptor hormonal-estrogênio e progesterona", "Her-2" e "prognóstico", e seus termos correspondentes em inglês, "breast cancer", "immuno-histochemistry", "RE, RP, Her-2" e "prognostic".

Foram verificados 2.255 trabalhos que abordaram os fatores prognósticos/preditivos determinados pelo exame imuno-histoquímico e selecionados 18 artigos, que integram esta revisão (Figura 1).

A importância clínica do exame imuno-histoquímico foi reconhecida e incorporada pelo sistema público de saúde e por convênios médicos brasileiros a partir da década de 1990.

Nesta revisão, incluímos apenas os artigos originais e excluímos os de revisão. O levantamento bibliográfico compreendeu período de 20 anos (1990 a 2010) (Figura 1).

Revisão sistemática

Para apresentação dos resultados, optou-se por considerar as seguintes variáveis nos artigos selecionados: autor, ano, país de realização da pesquisa, tamanho da amostra, método utilizado e conclusão.

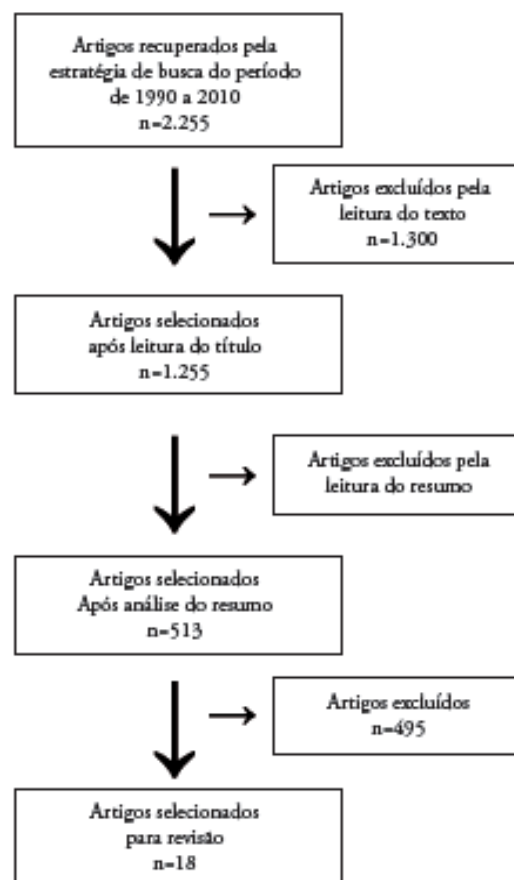


Figura 1. Fluxograma

Discussão

A heterogeneidade dos artigos não permitiu a aplicação de tratamento estatístico (metanálise). Dentre as diferenças entre os estudos, ressalta-se o número de pacientes utilizados nos 18 artigos selecionados (Tabela 1). Foram identificados trabalhos com 54 pacientes¹² a outros com número

maior, até 2.970. Os estudos foram realizados com a utilização de questionário ou por meio de levantamento de prontuários^{13,14}.

A incidência do câncer de mama vem aumentando^{15,16} e os tumores apresentam heterogeneidade tanto nas suas características clinicopatológicas quanto naquelas determinadas pelo exame imunohistoquímico^{17,18}.

Tabela 1. Revisão Sistemática

Autor	Ano	País	Amostra	Método	Conclusão
Crowe et al. ¹¹	1991	EUA	1392	Determinar se RE/RP interferem na sobrevida	O RH interfere no prognóstico. Pacientes com RE+ têm sobrevida maior
Hartman et al. ¹⁹	1994	EUA	354	Avaliação do Her-2 em axila positiva	Análise multivariada determina que o Her não é fator prognóstico isolado
Souern & Carvalho ²⁶	2002	Brasil	55	Relação entre a imuno, estágio do câncer de mama e linfonodos	Existe certa relação do Her-2 com fatores de prognóstico sombrios
Costa et al. ³⁰	2002	Alemanha	670	Avaliação dos receptores no câncer de mama	Idade, linfonodo e receptores são importantes na evolução do CA de mama
Uemura et al. ¹²	2003	Brasil	54	Estudo da expressão de marcadores imunohistoquímicos e fatores anatomo-clínico no CA de mama	Os parâmetros anatomoclínicos têm mais importância prognóstica
Bacha et al. ³⁴	2004	Brasil	115	Associação do c-erb com linfonodos e outros fatores prognósticos com CA de mama	O c-erb amplificado tem relação significativa com tamanho. Tumor o comprometimento axilar
Kim et al. ⁴¹	2006	Coreia do Sul	776	Características clínico-patológicas do basal like comparado com outros subtipos	O Her-2 tem importância no prognóstico, fazendo relação com o tamanho do tumor e comprometimento axilar
Ricci et al. ²³	2008	Brasil	123	Fatores morfológicos e moleculares e metástases	Não existe relação entre fatores morfo lógicos ou moleculares com metástase
Gluz et al. ³⁸	2009	EUA	1118	Estudo e prognóstico do câncer de mama triplo-negativo	Existe impacto do triplo-negativo no prognóstico
Van Belle et al. ¹³	2010	Bélgica	1927	Estudo comparando o Índice de Prognóstico de Nottingham (NPI) com e sem RE, RP e Her-2	A adição de RE, RP e Her-2 aumenta a acurácia do prognóstico
Wang et al. ³⁶	2010	China	835	Valor do prognóstico dos RH e Her-2	O triplo-negativo e Her+ interferem na recidiva local e sobrevida nas pacientes com axila +
Lialiaris et al. ²⁰	2010	Grécia	102	Avaliação do prognóstico e fatores preditivos no câncer de mama	A combinação desses fatores pode ser útil para prognóstico
Vallejos et al. ³⁶	2010	Peru	1198	Avaliação da diferença clinicopatológica e sobrevida em subtipos moleculares	O estudo demonstrou significado dos subtipos moleculares
Farzadnia et al. ²⁶	2010	EUA	75	Investigação do tipo de tumor, linfonodos, estágios e imunohistoquímica	A imuno pode ser considerada o método valioso
Cancello et al. ¹⁴	2010	Inglaterra	2970	Avaliação da imuno (subtipo luminal e Her-2) em pacientes jovens e CA	Jovens pacientes com triplo-negativo têm pior prognóstico
Pugliese et al. ²²	2010	EUA	484	Impacto da imuno e metástase do câncer de mama	Prognóstico pior da positividade do linfonodo sentinela eRH/Her-2+
Idirisinghe et al. ⁴⁰	2010	Singapura	117	Comparação da imuno com metástase à distância e recorrência local	A imuno é importante no tratamento e prognóstico
Reis-Filho et al. ⁹	2010	Inglaterra		Classificação molecular e do prognóstico	Análise entre erb-2, RE e axila+ confirma a agressividade

Aproximadamente 25% dos carcinomas têm Her-2 superexpresso e estes casos estão associados à pior doença livre e sobrevida global. Alguns estudos evidenciaram que o status do proto-oncogene Her-2, associado à axila positiva, tem valor prognóstico significativo. Hartmann et al.¹⁹, em uma análise multivariada de 354 pacientes, não encontraram evidência que o status Her-2 em axila positiva fosse um fator de prognóstico independente, porém relataram significativa correlação do grau nuclear elevado com a expressão do Her-2 e ausência de positividade do receptor de estrógeno.

É conhecida a correlação da condição dos receptores hormonais negativos com baixa diferenciação tumoral, alta taxa de proliferação celular e sobrevida menor. Lialaris et al.²⁰, em uma série de 102 pacientes com carcinoma primário mamário, investigaram marcadores imunohistoquímicos RE, RP e Her-2 e a combinação de outros fatores, como o tamanho tumoral, o tipo e o grau histológico, sobre como relacionam-se positivamente com a ocorrência de metástase. No entanto, a expressão dos RE e RP positiva mostrou relação inversa, ou seja, tumores que expressam receptores hormonais têm menor tendência à metástase, sendo útil no prognóstico e em informações terapêuticas. A combinação desses biomarcadores pode ser importante para o prognóstico e informações terapêuticas. Constantinidou et al.²¹ observaram que os tumores positivos para RE estavam mais associados ao carcinoma ductal e os positivos para RP, ao carcinoma lobular. Nesse estudo, o autor detectou correlação dos triplo-negativos com pior prognóstico.

O trabalho realizado no Memorial Sloan Kettering Cancer Center por Pugliese et al.²² comparou dois grupos em análise retrospectiva no período de 1996 a 2004. Em um grupo de 232 pacientes foi estudada a imuno-histoquímica (RE, RP e Her-2) em linfonodo sentinela positivo e no outro, 252 pessoas com o estudo da imuno-histoquímica em linfonodo sentinela negativo. As pacientes tinham grandes tumores, além de histologia lobular, alto grau (tumores pouco diferenciados) e Her-2 positivo. Eles receberam terapia sistêmica e tiveram média de seguimento de cinco anos. Não houve diferença na sobrevida livre ou global. Em 123 pacientes, com o estudo da imuno-histoquímica em linfonodo sentinela tratado com dissecação axilar, 16% tiveram axila positiva. Porém, os pacientes com imuno-histoquímica (RH e Her-2 negativo) e linfonodo positivo tinham pior prognóstico e alta taxa de terapia sistêmica, embora não tenham sido observadas diferenças nos resultados.

Em um estudo realizado na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) com 123 casos de câncer de mama invasivo, subdivididos em três grupos de acordo com o status axilar (micro, macrometástase e linfonodo-negativas) e associados com fatores morfológicos e moleculares, não foi identificada relação estatística significativa dos fatores morfológicos, tais como tamanho do tumor, tipo e grau histológico, como também os receptores hormonais, Her-2, Ki67 (anticorpo) e

p53 (oncoproteína genesupressor), e a ocorrência de metástases axilares. A ocorrência de metástases axilares esteve positivamente relacionada à embolização neoplásica em vasos linfáticos em lâminas coradas pela hematoxilina e eosina (HE) quando analisamos os casos com metástases e sem metástases (valor $p=0,040$) e quando analisados em três subgrupos (valor $p=0,002$). Foi observada relação positiva e estatisticamente significativa entre a presença de metástases axilares e invasão de vasos sanguíneos em lâminas coradas pelo CD31 (*cluster of differentiation* - valor $p=0,020$). Como conclusão, a invasão neoplásica em vasos linfáticos e sanguíneos identificada em cortes histológicos corados pela HE e por marcadores imunohistoquímicos relacionam-se positivamente com a ocorrência de metástase²³. Outros autores não demonstraram relação desses fatores e metástase. Porém, é conhecido que tumores que expressam receptores hormonais têm menor tendência à metástase e tumores com receptores hormonais negativos com baixa diferenciação tumoral e alta proliferação celular têm prognóstico desfavorável²⁴. No artigo de Viale et al.²⁵, em uma série de 4.351 pacientes com câncer de mama, e avaliação do linfonodo sentinela, identificou-se que o tamanho do tumor e a invasão peritumoral dos vasos eram os mais poderosos e independentes fatores preditivos de metástases em linfonodos sentinelas.

A literatura é sempre controversa quanto à importância prognóstica dos receptores hormonais em axila negativa. Estudos recentes comprovam que fatores anatômicos preponderam sobre os marcadores biológicos no prognóstico do câncer mamário sem comprometimento axilar. Na axila positiva, o Her-2 tem maior valor prognóstico¹².

No trabalho de Farzadnia et al.²⁶, foi estudada a oncoproteína Her-2/neu e sua correlação com parâmetros clínico-patológicos. O Her positivo tem um importante papel no câncer de mama. O Her-2 foi estudado por meio do exame imunohistoquímico e do sangue periférico (método de ELISA). Não foi evidenciada correlação entre a idade, o estágio, o grau e metástase linfonodal, com os níveis do Her-2. Outros autores, como Molina et al.²⁷ e Slamon et al.¹⁸ encontraram essa relação. Porém, não podemos afirmar que os marcadores possam atingir patamares confiáveis na clínica. Não existem regras que definam quais dos marcadores biológicos poderão ser diretamente relacionados ao prognóstico. Neste trabalho foi observado que as pacientes que tinham metástase apresentavam o Her-2 positivo (superexpresso) em 64%. Já autores como Rilke et al.²⁸ e Gullick et al.²⁹ não encontraram ligação entre o grau tumoral e o status do Her-2. No levantamento realizado por Choi et al.³⁰ e Imoto et al.³¹, os autores reportaram 95% de correlação do Her-2+ com idade e estadiamento. No quesito metástase axilar, não foi encontrada relação entre o número de linfonodos envolvidos e o nível do Her-2. Porém, Yuan et al.³² reportaram relação, enquanto Imoto et al.³¹ demonstraram significância entre a superexpressão da proteína do Her-2 e o número de metástase linfonodal. Observamos que os recepto-

res hormonais e Her2 são elementos importantes na resposta da hormonioterapia e do tratamento imunogenéticos.

Em outro estudo transversal, Bacha et al.³³ realizaram uma análise de 115 prontuários para estudar a associação do Her-2 e linfonodos axilares com outros fatores de prognóstico. Para receptores hormonais não houve associação estatística significativa. Porém, quando comparado o Her-2 com axila positiva, houve achado estatisticamente significativo. Não foi encontrada relação do tamanho tumoral e Her-2 positivo. O trabalho clássico de Valagussa et al.³⁴ mostra um prognóstico sombrio quando há quatro ou mais linfonodos acometidos. No estudo de 11 pacientes com mais de 10 linfonodos acometidos, 10 tinham Her-2 positivo. A presença do Her-2 passa a ser um fator de prognóstico desalentador. Estudos prospectivos, no entanto, se fazem necessários.

Quanto à expressão imunohistoquímica da proteína Her-2 e os estádios do câncer de mama, foi observado que mesmo nas pacientes com axila negativa há evolução sombria. Existe dúvida sobre o valor dos receptores hormonais como fator de prognóstico, mas a expressão aumentada do Her-2 se configura como indicador ruim na evolução do câncer de mama, com probabilidade de aumento de risco de recidiva precoce e sobrevida reduzida³⁵.

Cancello et al.¹⁴ estudaram 2970 pacientes jovens, com ênfase nos subtipos luminal A e B, tendo em vista os receptores hormonais, Her-2 e Ki-67. Pacientes com idade inferior a 35 anos apresentavam um risco aumentado para recorrência e morte quando comparados com pacientes mais velhas (*hazard ratio*=1,65).

Foi demonstrado que em pacientes jovens, com câncer de mama, existiam menos tumores Luminal A e mais casos de carcinoma triplo-negativo quando comparados a pacientes mais idosas. Verificou-se ainda uma relação entre idade e subtipos do câncer de mama bem como alto risco de recorrência local, metástase à distância e morte em pacientes jovens com Her-2 positivo pela imunohistoquímica quando comparados a pacientes com mais idade. Conclui-se que pacientes jovens com tumores triplo-negativo, perfil gênico, Luminal B ou Her-2 positivo têm prognóstico pior quando comparadas as pacientes mais velhas com características similares da doença.

A classificação molecular parece ser um excelente método na avaliação prognóstica no câncer de mama. No estudo realizado por Vallejos et al.³⁶, no qual foram analisados 1.198 pacientes com diagnóstico de câncer de mama entre 2000 e 2002, avaliaram-se as características clinicopatológicas e sobrevida global com quatro subtipos moleculares: Luminal A (RE+/RP+/Her-2-), Luminal B (RE+/RP+/Her-2+), Basal (RE/RP-/Her-2-) e Her-2 (RE/RP-/Her-2+), definidos pelo imunofenótipo dos receptores hormonais RE, RP e Her-2 por meio do exame da imunohistoquímica. Foram estudadas as diferenças clinicopatológicas, características e sobrevida. O estudo demonstrou diferença significativa entre os subtipos moleculares

e as características clinicopatológicas. Observou-se associação entre o status dos linfonodos e a imunohistoquímica (RH/Her-2+), com alta significância (valor $p=0,001$). Existia uma grande percentagem do Her-2 quando ligado com positividade nodal. Quando grupos não tinham envolvimento nodal, apresentavam maior prevalência do subtipo Luminal A (52%). Não existia associação entre os subtipos moleculares e lateralidade (valor $p=0,767$) ou status menopausal (valor $p=0,167$). Cada vez mais o conhecimento dos fatores de prognósticos e sua correlação com receptores hormonais e Her-2 têm tido papel fundamental na definição do tratamento do câncer de mama, principalmente nas pacientes que não apresentam axila positiva. Os autores concluíram que existia diferença significativa na distribuição de alguns subtipos moleculares em relação a fatores clínico-patológicos e no prognóstico do câncer de mama.

Os marcadores são importantes na avaliação do curso clínico da doença. Van Belle et al.¹⁵ investigaram a relação entre os receptores hormonais e o Her-2 com o Índice Prognóstico de Nottingham (IPN). Este índice clínico-patológico tem sido muito utilizado como base de fatores de prognóstico. Os autores analisaram 1.927 pacientes com câncer de mama no período de 2000 a 2005, quando compararam a performance do IPN associado ou não ao status dos receptores hormonais e do Her-2. A validação dos resultados demonstrou que, quando utilizado o IPN associado à definição dos RH e Her-2, o fator de prognóstico subiu de 20% para 30%. A curva de sobrevida não sofreu alteração nos dois grupos. A adição dos RH e Her-2 no IPN aumentou a acurácia no prognóstico em cinco anos e o IPN pode ser considerado útil na prática clínica em pacientes com câncer de mama e recebendo tratamento específico.

A determinação de marcadores é útil principalmente para aquelas pacientes que apresentam linfonodos comprometidos. No levantamento realizado por Wang et al.³⁷, estudando o valor de prognóstico dos receptores de estrogênio, receptores de progesterona e do Her-2 em pacientes com axila positiva que foram tratadas com mastectomia, foram avaliadas 835 pacientes com axila positiva no período de 2000 a 2004. As pesquisadas foram separadas em subgrupos baseados no resultado da análise imunohistoquímica dos receptores hormonais e do Her-2. Foi realizada uma comparação das variáveis clínicas com os quatro subgrupos definidos: RH-/Her-2+, RH-/Her-2-, RH+/Her-2+ e RH+/Her-2-, usando Pearson χ^2 com valor $p<0,05$. Demonstraram que as pacientes triplo-negativo (RE, RP e Her-2-) ou RH-/Her-2+ com câncer de mama tinham maior probabilidade de recorrência local e morte. Os pacientes que apresentavam RH-/Her-2+ tinham aumento da frequência de invasão linfovascular (valor $p=0,027$) e aumento na percentagem de casos estudados como N2-N3, positividade linfonodal (valor $p=0,011$, com piora do prognóstico). Fatores como idade, status menopausal, grau histológico, número de linfonodos dissecados e o status de RH não estão associados com significância na recorrência local e sobrevida livre. Como

conclusão, os tumores do subtipo molecular triplo-negativo e o Her-2 + são marcadores de prognóstico para recorrência loco-regional e estão mais predispostos a desenvolver metástase à distância, do que os pacientes que tem RH + e Her - (73% vs 54%) $p=0,014$.

Nesta mesma linha de raciocínio, Gluz et al.³⁸ analisaram 1.118 pacientes e estudaram o impacto no prognóstico dos casos caracterizados como triplo-negativo no câncer de mama. O resultado foi semelhante ao encontrado no trabalho feito na China por Wang et al.³⁷, que relata pior prognóstico desses tumores e resistência ao tratamento adjuvante.

Em um levantamento de Idrisinghe et al.³⁹, analisando 117 pacientes com determinação do status dos receptores hormonais e o do Her-2, foram comparados pacientes que tinham metástase à distância (72) e recorrência local (45) e analisado o impacto na sobrevida. Foi observada tendência de sobrevida curta entre mulheres com receptores de estrogênio e progesterona negativos com metástase e recidiva local. Os receptores hormonais são importantes para a avaliação da sobrevida dos pacientes e, quando associado a outros fatores de prognóstico, como idade, tamanho tumoral e axila, esta evidência fica mais forte. Os achados sugerem um benefício na rotina clínica pelo uso da imunohistoquímica para detecção dos RE, RP e Her-2 em pacientes com metástase à distância e recorrência local para definir melhor proposta terapêutica e prognóstico^{40,41}.

No Royal Marsden Hospital, em Londres, Reis-Filho et al.⁹ realizaram um estudo sobre os avanços do tratamento sistêmico em pacientes jovens com câncer de mama e o impacto na sobrevida dos pacientes na ausência de positividade para os RH e positividade para o Her-2. Nos últimos anos, tem havido grande interesse no estudo dos receptores hormonais e Her-2. Esses tumores são relativamente agressivos no curso clínico, com desenvolvimento precoce de metástase visceral e pior prognóstico. Embora deva ser observado que os tumores triplo-negativos compreendem um grupo heterogêneo de tumores, estes subtipos moleculares devem ser estudados bastante para identificar um alvo terapêutico mais eficaz e individualizado no tratamento das pacientes com este tipo molecular.

Conclusão

Podemos avaliar, após análise dos trabalhos aqui apresentados, que os pacientes com imunopositividade da proteína Her-2 apresentam alto risco de recidiva precoce e menor sobrevida que aqueles com ausência de expressão. O Her-2, nos últimos anos, têm sido bastante estudados, principalmente em relação à sua influência no comportamento biológico e, mais recentemente, como alvo terapêutico. Os receptores hormonais já têm seu papel assegurado como importante elemento na avaliação clínica pós-diagnóstico do câncer de mama. Os receptores hormonais

positivos tendem a apresentar maior sobrevida que as pacientes com tumores com receptores negativos.

Devido à heterogeneidade da doença, observamos que existe divergência nos diversos trabalhos e controvérsias no valor dos fatores determinados pelo exame imunohistoquímico no prognóstico. Porém, quando associada a fatores clínico-patológicos, esta correlação fica mais evidente. O câncer de mama, por sua etiologia multifatorial, apresenta variedade morfológica, características moleculares, comportamento e resposta a terapias diferentes.

Nos trabalhos posteriores, acreditamos serem necessários estudos com maior período de seguimento e nos quais sejam avaliados, em conjunto, os fatores clínicos e histopatológicos tradicionais e aqueles obtidos pelo exame imunohistoquímico e pela biologia molecular.

Referências

1. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2008: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA 2007. Disponível em http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/estimativa_incidence_cancer_2008.pdf
2. Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol*. 2001;2(9):533-43.
3. Gonçalves ATC, Jobim PFC, Vanacore R, Nunes LN, Albuquerque IM, Bozzetti MC. Câncer de mama: mortalidade crescente na Região Sul do Brasil entre 1980 e 2002. *Cad Saúde Pública*. 2007;23(8):1785-90.
4. Schwartzmann G. Breast cancer in South America: challenges to improve early detection and medical management of a public health problem. *J Clin Oncol*. 2001;19:118-24.
5. Tavassoli FA, Devilee P, editors. World Health Organization classification of tumors: pathology and genetics of tumors of the breast and female genital organs. Lyon: IARC Press; 2003.
6. American Cancer Society. Leading sites of new cancer cases and deaths-2005 estimates. Disponível em www.cancer.org/acs/groups/content/nho/documents/document/caff2005fwpsecurepdf.pdf.
7. Eisenberg AL, Koifman S. Câncer de mama: marcadores tumorais. *Rev Bras Cancerol*. 2001;47(4):377-88.
8. Allemani C, Sant M, Berrino F, Aareleid T, Chaplain G, Coebergh JW, et al. Prognostic value of morphology and hormone receptor status in breast cancer – a population-based study. *Br J Cancer*. 2004;91(7):1263-8.
9. Reis-Filho JS, Westbury C, Pierga JY. The impact of expression profiling on prognostic and predictive testing in breast cancer. *J Clin Pathol*. 2006;59(3):225-31.
10. Berry DA, Cronin KA, Plevritis SK, Fryback DG, Clarke L, Zelen M, et al. Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer. *N Engl J Med*. 2005;353(17):1784-92.
11. Crowe JP, Gordon NH, Hubay CA, Shenk RR, Zollinger RM, Brumberg DJ, et al. Estrogen receptor determination and long term survival of patients with carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet*. 1991;173(4):273-8.
12. Uemura G, de Luca L, Rodrigues JRP, Vespoli HM, Carvalho LR, Traiman P. Um estudo da expressão de marcadores imunohistoquímicos

- cos (receptor de estrogênio, P53 e HER-2) e fatores anatômicos de câncer de mama em pacientes axila-negativas. *Rev Bras Mastol.* 2003;13(3):127-32.
13. Van Belle V, Van Calster B, Brouckaert O, Bempt IV, Pintens S, Harvey V, et al. Qualitative assessment of the progesterone receptor and HER-2 improves the Nottingham prognostic index up to 5 years after breast cancer diagnosis. *J Clin Oncol.* 2010;28(27):4129-34.
14. Canello G, Maisonneuve P, Rotmen N, Viale G, Mastropasqua MG, Pruneri G, et al. Prognosis and adjuvant treatment effects in selected breast cancer subtypes of very young women (<35 years) with operable breast cancer. *Ann Oncol.* 2010;21(10):1974-81.
15. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global Cancer Statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005;55(2):74-108.
16. Coughlin SS, Ekwueme DU. Breast cancer as a global health concern. *Cancer Epidemiol.* 2009;33(5):315-8.
17. Bernoux A, de Cremoux P, Lainé-Bidron C, Martin EC, Asselain B, Magdelénat H. Estrogen receptor negative e progesterone receptor positive primary breast cancer: pathological characteristics and clinical outcome. Institut Curie Breast Cancer Study Group. *Breast Cancer Res Treat.* 1998;49(3):219-25.
18. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science.* 1987;235(4785):177-8.
19. Hartmann LC, Ingle JN, Wold LE, Farr GH Jr, Grill JP, Su JQ, et al. Prognostic value of c-erbB2 overexpression in axillary lymph node positive breast cancer. Results from a randomized adjuvant treatment protocol. *Cancer.* 1994;74(11):2956-63.
20. Lialaris TS, Georgiou G, Sivridis E, Kareli D, Tripsianis G, Papa-georgiou A, et al. Prognostic and predictive factors of invasive ductal breast carcinomas. *J Buon.* 2010;15(11):79-88.
21. Constantinidou A, Jones RL, Reis-Filho JS. Beyond triple-negative breast cancer: the need to define new subtypes. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2010;10(8):1197-213.
22. Pugliese M, Stempel M, Patil S, Hsu M, Ho A, Traina T, et al.. The clinical impact and outcomes of immunohistochemistry-only metastasis in breast cancer. *Am J Surg.* 2010; 200(3):368-73.
23. Ricci MS, Junqueira PAA. Marcadores moleculares em câncer de mama preditivos de metástases axilares. *Rev Assoc Med Bras.* 2008; 54(3):189.
24. Brenin DR, Manasseh DM, El-Tamer M, Troxel A, Schnabel F, Dittkoff BA, et al. Factors correlating with lymph node metastases in patients with T1 breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2001;8(5):432-7.
25. Viale G, Zurrida S, Maiorano E, Mazzarol G, Pruneri G, Paganelli G, et al. Predicting the status of axillary sentinel lymph nodes in 4351 patients with invasive breast carcinoma treated in a single institution. *Cancer.* 2005;103(3):492-500.
26. Farzadnia M, Meibodi NT, Shandiz FH, Mahmoudi M, Bahar MM, Memar B, et al. Evaluation of HER2/neu oncoprotein in serum and tissue samples of women with breast cancer: correlation with clinicopathological parameters. *Breast.* 2010;19(6):489-92.
27. Molina R, Ciocca DR, Tandon AK, Allred DC, Clark GM, Channess GC, et al. Expression of HER-2/neu oncoprotein in human breast cancer: a comparison of immunohistochemical and western blot techniques. *Anticancer Res.* 1992;12(6B):1965-71.
28. Rilke F, Colnaghi MI, Cascinelli N, Andreola S, Baldini MT, Bufalino R, et al. Prognostic significance of HER-2/neu expression in breast cancer and its relationship to other prognostic factors. *Int J Cancer.* 1991;49(1):44-9.
29. Gullick WJ, Love SB, Wright C, Barnes DM, Gusterson B, Harris AL, et al. c-erbB-2 protein overexpression in breast cancer is a risk factor in patients with involved and uninvolved lymph nodes. *Br J Cancer.* 1991;63(3):434-8.
30. Choi DH, Shin DB, Lee MH, Lee DW, Dhandapani D, Carter D, et al. A comparison of five immunohistochemical biomarkers and HER-2/neu gene amplification by fluorescence in situ hybridization in white and Korean patients with early-onset breast carcinoma. *Cancer.* 2003;98(8):1587-95.
31. Imoto S, Kitoh T, Hasebe T. Serum c-erbB-2 levels in monitoring of operable breast cancer patients. *Jpn J Clin Oncol.* 1999;29(7):336-9.
32. Yuan P, Xu BH, Zhang C, Qi J. Serum her-2/neu level and related factors in patients with breast cancer. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 2003;25(6):573-4.
33. Bacha OM, Zettler CG, Gonzales F, Grossmann S. Associação do c-erbB-2 com linfonodos axilares e outros fatores prognósticos no câncer de mama. *Rev Soc Bras Oncol Clin.* 2004;1(3):31-4.
34. Valagussa P, Bonadonna G, Veronesi U. Patterns of relapse and survival following radical mastectomy. Analysis of 716 consecutive patients. *Cancer.* 1978;41(3):1170-8.
35. Souern J, Carvalho FM. Relação entre a expressão imunistoquímica da proteína HER-2 e os estádios de cânceres de mama e o status dos linfonodos. *Rev Bras Mastol.* 2002;12(3):11-4.
36. Vallejos CS, Gomez HC, Cruz WR, Pinto JA, Dyer RR, Velarde R, et al. Breast cancer classification according to immunohistochemistry markers: subtypes and association with clinicopathologic variables in Peruvian Hospital Database. *Clin Breast Cancer.* 2010;10(4):294-300.
37. Wang SL, Li YX, Song YW, Wang WH, Jin J, Liu YP, et al. Triple-negative or HER2-positive status predicts higher rates of locoregional recurrence in node-positive breast cancer patients after mastectomy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2010;80(4):1095-101.
38. Gluz O, Liedtke C, Gottschalk N, Pusztai L, Nitt U, Harbeck N. Triple-negative breast cancer – current status and future directions. *Ann Oncol.* 2009;20(12):1913-27.
39. Idirisinghe PK, Thike AA, Cheok PY, Tie GM, Lui PC, Fook-Chong S, et al. Hormone receptor and c-ERBB2 status in distant metastatic and locally recurrent breast cancer. Pathologic correlations and clinical significance. *Am J Clin Pathol.* 2010;133(3):416-29.
40. Costa SD, Lange S, Klinga K, Merkle E, Kaufmann M. Factors influencing the prognostic role of oestrogen and progesterone receptor levels in breast cancer – results of the analysis of 670 patients with 11 years of follow-up. *Eur J Cancer.* 2002;38(10):1329-34.
41. Kim MJ, Ro JY, Ahn SH, Kim HH, Kim SB, Gong G. Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer: a comparison with hormone receptor and Her2/neu-overexpressing phenotypes. *Hum Pathol.* 2006;37(9):1217-26.



4.2 ARTIGO ORIGINAL

Correlação clínico-patológica em diferentes imunofenótipos(status dos receptores hormonais e do HER-2)no carcinoma invasivo da mama ♦

Clinic-pathologic correlation in different immunophenotypes(receptor hormonal and HER-2 status)in invasive breast cancer

Darley de Lima Ferreira Filho¹, Nancy Cristina Ferraz de Lucena Ferreira²,
Maria do Carmo Abreu e Lima³

¹Chefe do Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena-Recife-PE

²Supervisora da Residência Médica de Mastologia do Hospital Barão de Lucena-Recife-PE

³Professora Associada do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Pernambuco

Descritores:

Câncer de mama, Fatores prognósticos, Receptores hormonais e HER-2

Keywords:

Breast cancer, Prognosis factors, hormonal receptor e HER-2 status

Correspondência:

Darley de Lima Ferreira Filho

Av.Rosa e Silva,707/2502,Aflitos - Cep:52020-220

E-mail:darleyferreira@oi.com.br

♦Artigo Original submetido para publicação e formatado de acordo com as normas do Journal of the Senologic International Society (www.sisjournal.org) (Anexo D).



RESUMO

Objetivos: Correlacionar as características clínica-patológicas e a evolução clínica, com os diferentes imunofenótipos (receptores hormonais e status do HER-2) em pacientes com câncer de mama. **Material e Método:** Foram estudadas 211 pacientes do sexo feminino em tratamento no Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena, Recife PE, no período de 1 ano (julho de 2009 até julho de 2010). Os quais foram separados em 2 grupos de acordo com imunofenótipos: o grupo 1 (alto risco): $RE^{\ominus}/RP^{\ominus}/Her-2^{\ominus}$; $RE^{\ominus}/RP^{\ominus}/Her-2^{\oplus}$; $RE^{\oplus}/RP^{\oplus}/Her-2^{\oplus}$; e $RE^{\oplus}/RP^{\ominus}/Her-2^{\oplus}$, e o grupo 2 (baixo risco): $RE^{\oplus}/RP^{\oplus}/Her-2^{\ominus}$ e $RE^{\oplus}/RP^{\ominus}/Her-2^{\ominus}$. Em toda a análise foi considerado nível de significância de 5%. **Resultados:** A faixa etária dominante foi a de 41 a 60 anos com 116 casos (55,2%), com idade média de 49,77 anos. Com relação à raça, cor negra foi observada em 91 (51,7%) pacientes e 85 (48,3%) eram de cor branca. A mamografia 121 pacientes (57,9%) foram diagnosticados na categoria BI-RADS 4 e 72 (35,2%) na BI-RADS 5. O tipo histológico dominante foi o carcinoma ductal invasivo em 194 (94,6%). A maior parte das pacientes estavam no estágio I/II com 153 (73,4%) das pacientes. Comprometimento de linfonodos axilares foi: ausência de metástase em 111 (52,1%) pacientes, verificado em 1 a 3 linfonodos 51 (24,0%); de 4 a 9 linfonodos 31 (15,3%) e acima de 10 linfonodos 18 (8,6%). Foi realizada cirurgia conservadora em 105 (48,0%) pacientes e mastectomia em 81 (38,5%). Metástase a distância foi verificada em 34 (16,2%) das pacientes, sendo mais frequente a metástase óssea. Em relação ao imunofenótipos, 107 pacientes (51,3%) enquadraram-se no grupo 1 /alto risco e 104 (48,7%) no grupo 2/baixo risco. **Conclusão:** Houve correlação significativa entre o imunofenótipo de alto risco /grupo 1 com idade mais jovem (≤ 40 anos), raça negra, e maior comprometimento de linfonodos axilares (≥ 10 linfonodos positivos).

Palavra-chave: Câncer de mama, fatores clínico-patológico, imunoistoquímica, prognóstico



ABSTRACT

Objectives: To correlate the clinico-pathologic characteristics and clinical course of breast cancer patients, with different breast cancer phenotypes based on hormonal receptor and Her-2 status. **Material and Method:** Two-hundred and eleven women treated at the Mastology Service, Hospital Barão de Lucena, Recife PE, from July 2009 to July 2010, were selected. They were separated into two groups according to the tumor immunophenotype: group 1 (high-risk): $RE^{-}/RP^{-}/Her-2^{-}$; $RE^{-}/RP^{-}/Her-2^{+}$; $RE^{+}/RP^{+}/Her-2^{+}$; and $RE^{+}/RP^{-}/Her-2^{+}$, and group 2 (low-risk): $RE^{+}/RP^{+}/Her-2^{-}$ e $RE^{+}/RP^{-}/Her-2^{-}$. **Results:** The predominant age range was 41 to 60 years old, representing 116 cases (55.2%), with a mean age of 49.77. Ninety-one patients (51.7%) were Afro-descendants, and 85 (48.3%) were Hispanic-whites. One-hundred and twenty-two patients (57.9%) had mammographic lesions classified as BI-RADS 4 and 72 (35.2%) as BI-RADS 5. The most common histological subtype was invasive ductal carcinoma, which corresponded to 94.6% of the cases. The majority of patients (73.4%) had Stage I/II disease. Regarding lymph node involvement: 111 (52.1%) patients had no metastases, 51 (24.0%) had 1 to 3 positive nodes; 31 (15.3%) had 4 to 9 positive nodes and 18 (8.6%) had 10 or more positive nodes. Conservative surgery and mastectomy were performed in 105 (48.0%) and 81(38.5%) patients, respectively. Thirty-four (16.2%) patients had distant metastases, most commonly to bones. One-hundred and seven patients (51.3%) had tumors classified as group 1 /high-risk immunophenotype and 104 (48.7%) as group 2/low-risk immunophenotype. **Conclusion:** Tumors classified as group 1/high-risk immunophenotype were significantly associated with black and younger patients (≤ 40 years old), and more extensive lymph node involvement (ten or more positive nodes).

Key-words: breast cancer, clinico-pathologic factors, immunohistochemistry, prognosis.



INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o câncer de liderança no mundo em termos de incidência e mortalidade em mulheres. A cada ano que passa, tem sido observado um aumento da incidência desta doença. Nos últimos anos as pesquisas tiveram uma grande evolução, porém o problema ainda é devastador. O número de casos de câncer vem aumentando em todo o mundo, porém, a incidência e a mortalidade apresentam diferenças relevantes segundo as regiões geográficas. (1)

Nos últimos anos estimam a ocorrência de 1 milhão de casos de câncer de mama e que mais de 9% das mulheres desenvolverão a doença durante suas vidas. A maior parte dos casos ocorre em países desenvolvidos, tendo a Holanda maior incidência (90,2/100.000), seguido pelos Estados Unidos com taxa de (86,9/100.000). (2) Conforme relatório da organização mundial da saúde (OMS), a mortalidade global no ano de 2007 foi cerca de 548.000 óbitos, dos quais, 72% ocorreram em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento. Nestes países, tanto a incidência como a mortalidade elevaram-se consideravelmente devido ao envelhecimento populacional, mudanças nos padrões reprodutivos, maior exposição aos fatores de risco e problemas relacionados a detecção e diagnóstico precoce, bem como tratamento adequado. (2)

A detecção precoce do câncer de mama é fator decisivo na determinação do prognóstico. Os estudos epidemiológicos em diferentes regiões do Brasil são importantes para o desenvolvimento de melhores programas de prevenção e rastreamento. Caracterizam-se como neoplasias heterogêneas, com vários subtipos histopatológicos, além de apresentações clínicas diferentes com diversas variações de resposta ao tratamento. (3,4) Um dos maiores desafios para o estudo e tratamento do carcinoma de mama é sua heterogeneidade tumoral. (5) A atual classificação histológica dos carcinomas invasivos da mama pela Organização Mundial de Saúde representa uma extensa lista da qual os tipos histológicos mais frequente são o carcinoma ductal invasivo (50% a 75%) e carcinoma lobular invasivo (5 a 15%). Os demais, considerados tipos especiais, são menos frequentes e incluem o carcinoma tubular, mucinoso, medular e metaplásico, entre outros. (6)

O grau de diferenciação histológica também é uma medida de grande utilidade na clínica e reflete o potencial de malignidade do tumor, indicando a sua maior ou menor capacidade de metastatização. A classificação anatomopatológica é insuficiente para



caracterizar os carcinomas de mama, uma vez que os tumores com mesmo grau, estágio e tipo histológico podem apresentar diferentes prognósticos e resposta à terapia. (7)

Existem fatores para avaliação prognóstica do câncer de mama, sendo considerados importantes o tamanho, o tipo e grau histológico, invasão vascular, o comprometimento dos gânglios linfáticos, índice de proliferação celular, expressão dos receptores hormonais e a superexpressão do fator de crescimento epidermal (Her-2). (6,7)

Devido à heterogeneidade dos tipos tumorais e suas características morfológicas e dos seus fenótipos, existe uma dificuldade para estabelecer uma relação entre os achados clínicos, prognósticos e o grau de recorrência que pode ocorrer com o passar dos anos após o tratamento adjuvante.

O objetivo deste estudo foi correlacionar o estadiamento pós-cirúrgico e a evolução clínica das pacientes com câncer de mama, avaliando as características histopatológicas e imunoistoquímicas considerados fatores prognósticos e/ou preditivos.

Metodologia

O estudo foi realizado com 211 pacientes do sexo feminino portadoras de câncer de mama e que foram submetidas a tratamento cirúrgico no Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena no período de julho de 2009 até julho de 2010. Nessas pacientes, foram estudadas as características clínicas e patológicas dos tumores e correlacionadas com o perfil imunoistoquímico.

Foram correlacionados os perfis imunoistoquímico de alto risco (Grupo 1) e baixo risco (Grupo 2) com as seguintes variáveis: a idade, cor da pele, tipo histológico, estadiamento patológico, presença de metástases axilares, a categoria mamográfica BI-RADS[®], o tipo de procedimento cirúrgico (mastectomia ou setorectomia com esvaziamento axilar ou com linfonodo sentinela, seguida ou não de reconstrução mamária e técnicas de oncoplastia) e recorrência (presente ou ausente).

A análise descritiva dos dados foi feita por meio de tabelas e/ou gráficos para variáveis qualitativas. Para análise de associação foi utilizado o teste Qui-quadrado para independência. Nas tabelas que apresentaram frequência esperada menor que 5, em mais de 20% das caselas, foi utilizado o teste Exato de Fisher. Além disso, foi calculada a razão de chance (OR) e o intervalo de confiança para OR. Em toda a análise foi considerado o nível de significância de 5%. Em relação aos fatores prognósticos/ preditivos determinados pelo exame imunoistoquímico, as pacientes foram separadas em 02 grupos: o Grupo 1 para o perfil com alto risco com os imunofenótipos RE[⊖]/RP[⊖]/Her-2[⊖]; RE[⊖]/RP[⊖]/Her-2[⊕]; RE[⊕]/RP[⊕]



/Her-2⁺; e RE⁺/RP⁻/Her-2⁺ e o grupo 2 com baixo risco, onde as pacientes tinham os imunofenótipos RE⁺/RP⁺/Her-2⁻ e RE⁺/RP⁻/Her-2⁻. O argumento para a não divisão em 3 grupos (risco alto, intermediário e baixo), foi a não utilização da razão de chance (OR) dos resultados, ou seja, caso não caso (Tabela 1).

Foram considerados HER-2 positivos os tumores que apresentam coloração intensa (3+) em toda membrana celular, em mais de 30% das células avaliadas. (8) Os receptores hormonais foram considerados positivos quando pelo menos 1% ou mais dos núcleos das células neoplásicas mostrarem imunoexpressão para RE/RP, foi estabelecida a intensidade (forte, moderada e fraca) e percentual de coloração de acordo com o consenso da ASCO/CAP. (9)

O sistema do BI-RADS[®], desenvolvido pela *American College of Radiology*, é utilizado para sistematizar os laudos mamográficos. As categorias diagnósticas do BI-RADS[®] são seis: BI-RADS 0 (achado mamográfico que requer um exame complementar); BI-RADS 1 (negativo para malignidade); BI-RADS 2 (achados benignos); BI-RADS 3 (proavelmente benigno); BI-RADS 4 que é dividido em: 4a – lesões com leve suspeita; 4b – lesões com grau intermediário de suspeição; 4c – lesões com maior suspeita de malignidade; BI-RADS 5: lesões altamente suspeitas (necessário proceder a investigação histológica) com 95% de risco; BI-RADS 6: biópsia prévia com confirmação de malignidade. (10)

RESULTADOS

Quanto a distribuição das pacientes em relação aos imunofenótipos, 107 (51,3%) enquadraram-se no grupo 1 (alto risco); 104 (48,7%) no grupo 2 (baixo risco) com a seguinte distribuição: grupo 1 RE⁻/RP⁻/Her-2⁻ 38 (18,0%); RE⁻/RP⁻/Her-2⁺ 34 (16,2%); RE⁺/RP⁺/Her-2⁺ 26 (12,7%); e RE⁺/RP⁻/Her-2⁺ 9 (4,3%); grupo 2 RE⁺/RP⁺/Her-2⁻ 83 (39,5%) e RE⁺/RP⁻/Her-2⁻ 21 (9,3%). As figuras 1, 2 e 3 ilustram alguns dos imunofenótipos encontrados.

Ao se correlacionar o perfil imunoistoquímico com as características da idade, cor da pele, tipo histológico, estágio patológico, categoria mamográfica BI-RADS, modalidade cirúrgica e recorrência, observamos que na análise das 211 pacientes, a média de idade foi de 49,77 anos com idade mínima de 20 e máxima de 90 anos. A distribuição das pacientes quanto a faixa etária foi: até 40 anos, 38 (18,5%) pacientes, entre 41 e 60 anos 116 (54,2%) pacientes, e acima de 61 anos, 57 (27,5%). Quando associados esses dados com o perfil imunoistoquímico de alto risco (grupo 1) e com idade inferior a 40 anos, houve uma



correlação desses fatores, com um ($p=0,010$ e OR foi de 6,20), em relação as pacientes com idade superior a 41 anos.

Quanto à cor da pele observamos que 85 (48,3%) pacientes tinham pele branca e 91 (51,7%) pacientes da cor negra. Houve uma associação com o perfil de alto risco (grupo 1) com a cor da pele negra ($p=0,002$; OR 2,95), principalmente naquelas de perfil imunoistoquímico triplo negativo.

O tipo histológico mais encontrado foi o carcinoma ductal invasivo (CDI) que ocorreu em 195 (92,5%) pacientes, seguido do carcinoma lobular invasivo (CLI) em 11 (5,2%) pacientes. Os outros tipos de carcinomas verificados foram o medular, tubular e mucinoso que ocorreram em apenas 5 (2,3%) pacientes. O tipo histológico não apresentou qualquer tipo de correlação com o perfil imunoistoquímico de baixo ou alto risco.

Com relação ao estágio patológico, o estágio II foi o mais encontrado, correspondendo a 97 (46,2%) pacientes, seguido do estágio I em 58 (27,2%) pacientes e o estágio III em 52 (25,5%) pacientes. O diâmetro tumoral variou de 0,5 a 6cm e mostrou a seguinte distribuição, T1 em 55 (26,3%) pacientes, T2 em 98 (46,8%) pacientes e T3 em 52 (24,7%) pacientes. Não foi verificada associação entre o estadiamento patológico e o perfil imunoistoquímico de baixo e alto risco. Observou-se ausência de comprometimento axilar em 111 (52,0%) pacientes, de 1 a 3 linfonodos comprometidos em 51 (24,0%), de 4 a 9 linfonodos em 31 (15,4%) e acima de 10 em 18 (8,6%) pacientes. Nas pacientes onde o acometimento do número de linfonodos foi acima de 10 linfonodos houve associação com o imunofenótipo de risco aumentado/ grupo 1 ($p=0,041$ e OR 5,00).

Quanto a categoria mamográfica BI-RADS[®], foi observado que 121 (57,3%) pacientes foram enquadradas na categoria BI-RADS 4, em 72 (34,1%) na BI-RADS 5 e 9 (4,3%) pacientes na BI-RADS 3 e 9 (4,3%) pacientes no BI-RADS 0. Não se observou correlação entre a categoria do BI-RADS e os perfis prognósticos. Quanto ao procedimento cirúrgico, o tipo de cirurgia mais realizado foi a cirurgia conservadora com setorectomia com estudo do linfonodo sentinela, setorectomia com esvaziamento axilar e oncoplastia em 105 (49,5%) pacientes, em outras 81 (38,5%) pacientes foi realizado mastectomia radical e mastectomia radical com reconstrução mamária imediata em 25 (11,9%) pacientes. O tipo de procedimento cirúrgico não mostra associação com o perfil imunoistoquímico. A presença de metástase foi detectada em 34 (16,3%) pacientes e ausência em 177 (83,7%) pacientes. Nas pacientes que tiveram metástase, a óssea foi a mais frequente ocorrendo em 11 (5,2%) pacientes, seguido da metástase pleuro-pulmonar em 6 (2,8%) pacientes. Todos esses dados podem ser vistos na Tabela 1.



Tabela 1. Análise descritiva e de associação do resultado do exame imunoistoquímico segundo idade, cor da pele, tipo histológico, estadiamento patológico, linfonodos, BI-RADS®, tipo de procedimento e recorrência realizada em 211 pacientes.

Variável	Imunoistoquímica		Total	OR	IC (OR,95%)	p-valor
	Alto Risco Grupo1	Baixo Risco Grupo2				
Idade (anos completos)						
20 a 30	1(16,7%)	5(83,3%)	6(2,8%)	1,24	0,00 – 16,40	0,010 ¹
31 a 40	16(50,0%)	16(50,0%)	32(15,6%)	6,20	1,70 – 23,91	
41 a 50	13(21,0%)	45(79,0%)	58(27,4%)	1,64	0,48 – 5,92	
51 a 60	19(32,7%)	39(67,3%)	58(26,5%)	3,02	0,91 – 10,57	
61 a 70	6(13,9%)	31(86,1%)	37(17,5%)	-	-	
Acima de 70	8(42,1%)	12(57,9%)	20(9,0%)	4,51	1,03 – 20,70	
Cor da pele						
Branca	16(18,8%)	69(81,2%)	85(48,3%)	-	-	0,002 ¹
Escura	37(40,7%)	54(59,3%)	91(51,7%)	2,95	1,41 – 6,23	
Tipo Histológico						
Ductal	57(29,4%)	138(70,6%)	195(92,6%)	-	-	1,000 ¹
lobular	3(27,3%)	8(72,7%)	11(5,4%)	-	-	
Estadiamento						
0	0(0,0%)	4(100,0%)	4(1,9%)	-	-	0,411 ²
1	13(23,6%)	45(76,4%)	58(27,3%)	-	-	
2	30(30,6%)	67(69,4%)	97(45,9%)	-	-	
3	18(34,6%)	34(65,4%)	52(24,9%)	-	-	
Linfonodos						
Ausência de Metástase	36(32,4%)	75(67,6%)	111(52,0%)	2,40	0,95 – 6,21	0,041 ¹
1 a 3	8(16,7%)	43(83,3%)	51(24,0%)	-	-	
4 a 9	8(25,0%)	23(75,0%)	31(15,4%)	1,67	0,49 – 5,74	
Acima de 10	9(50,0%)	9(50,0%)	18(8,6%)	5,00	1,31 – 19,81	
BI-RADS						
0	3(33,3%)	6(66,7%)	9(4,3%)	-	-	0,126 ²
3	4(57,1%)	5(42,9%)	9(4,3%)	-	-	
4	39(32,2%)	82(67,8%)	121(57,4%)	-	-	
5	16(21,1%)	56(78,9%)	72(34,0%)	-	-	
Tipo de procedimento						
Mastectomia	28(30,3%)	63(69,7%)	81(38,4%)	-	-	0,840 ¹
Oncoplastia	4(23,5%)	15(76,5%)	20(9,5%)	-	-	
Quadrantectomia + LS	17(27,3%)	41(72,7%)	58(27,4%)	-	-	
Quadrantectomia + EA	6(23,1%)	21(76,9%)	27(12,8%)	-	-	
Mastect+reconst	9(36,4%)	16(63,6%)	25(11,9%)	-	-	
Recorrência						
Presente	12(37,5%)	22(62,5%)	34(16,2%)	-	-	0,157 ¹
Ausente	42(25,3%)	135(74,7%)	177(83,8%)	-	-	

¹p-valor do teste Qui-quadrado²p_valor do teste Exato de Fisher; OR= razão de chance; IC=intervalo de confiança;

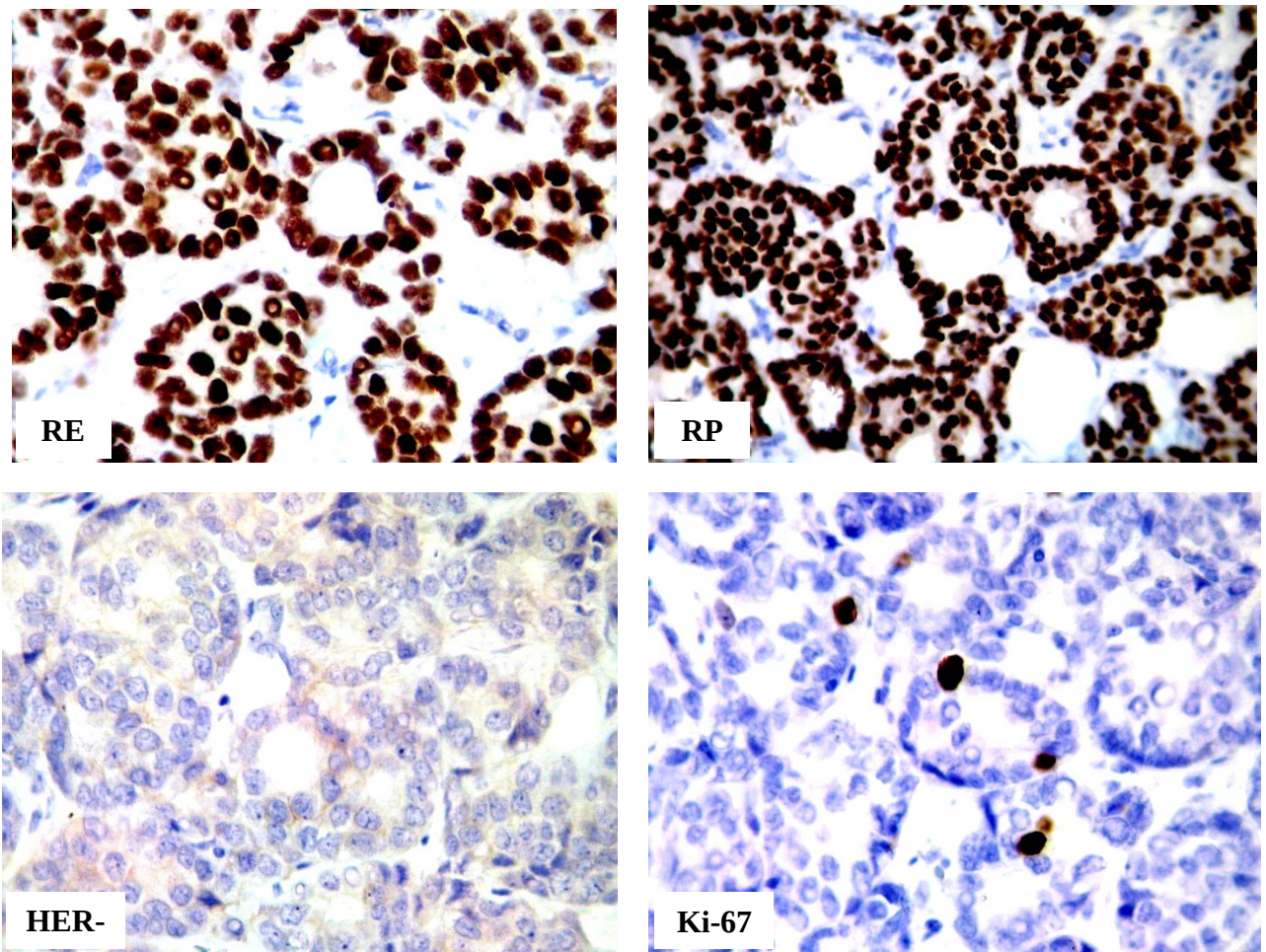


Figura 1 – Carcinoma ductal invasivo bem diferenciado, grau 1. O tumor é positivo para ambos os receptores hormonais (RE e RP); negativo para o HER-2 (escore 1+) com baixo índice proliferativo (Ki-67 < 5%). (original 400X).

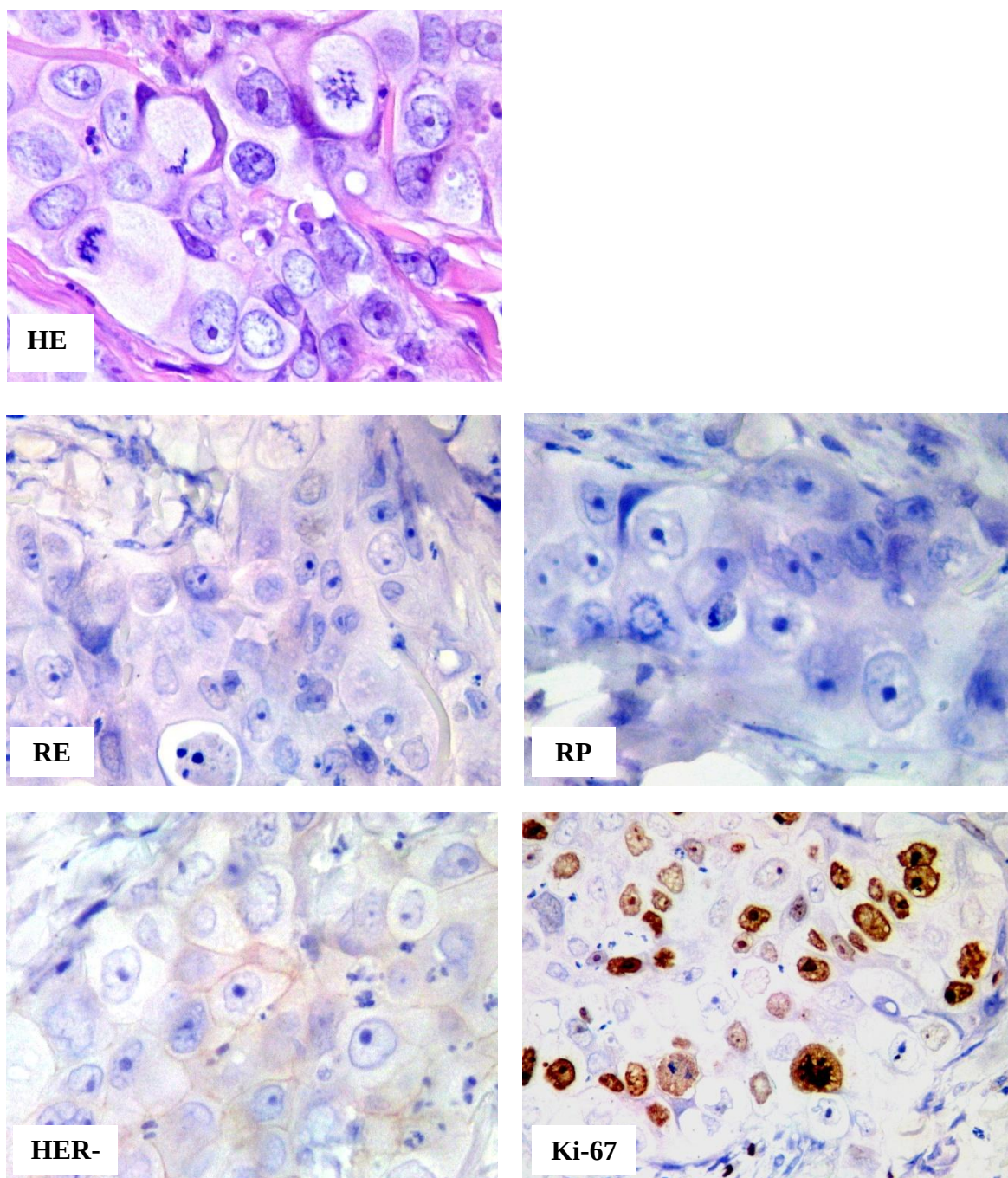


Figura 2 – Carcinoma ductal invasivo mal diferenciado, grau 3, triplo negativo. O tumor é negativo para ambos os receptores hormonais (RE e RP); negativo para o HER-2 (escore 1+) e com alto índice proliferativo (Ki-67 = 70%). (original 400X)

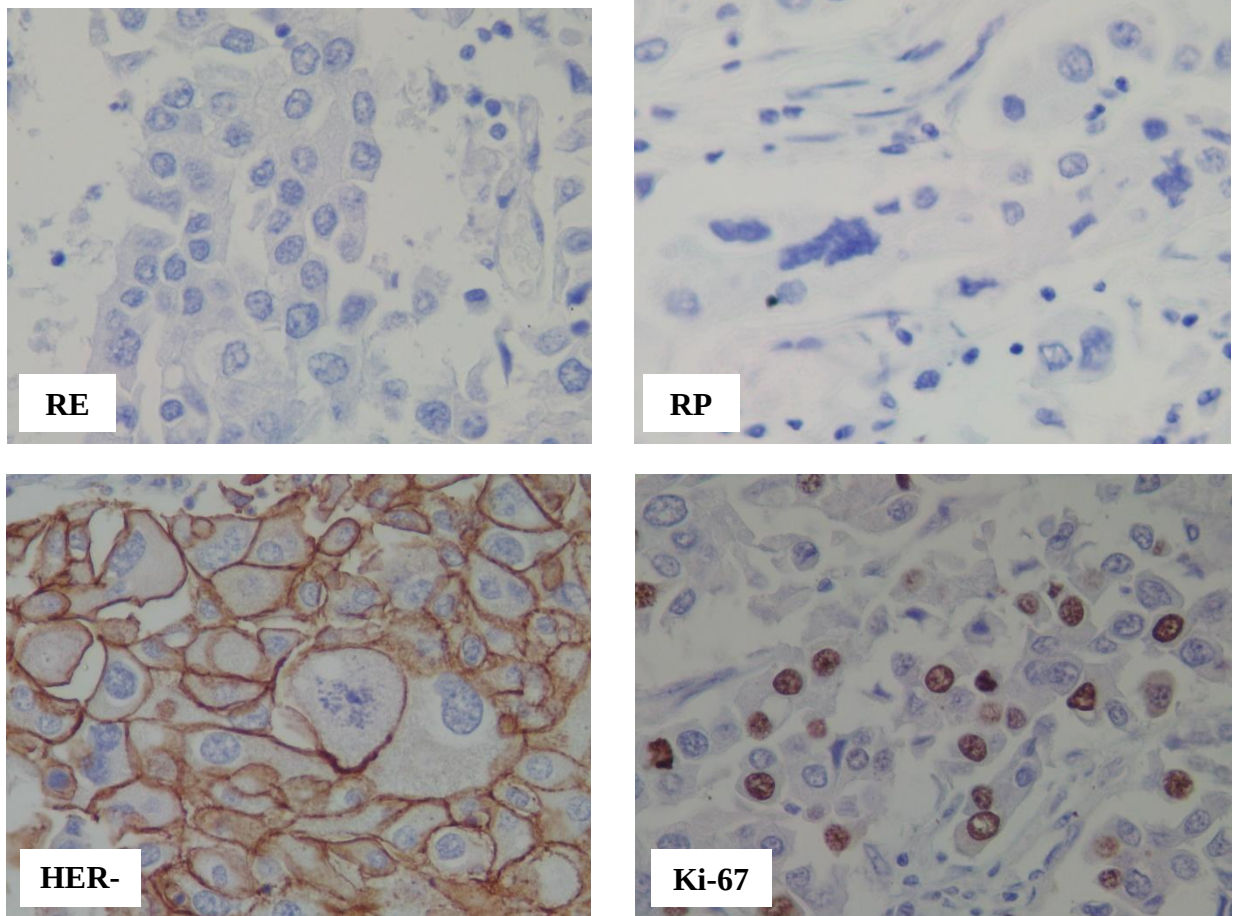


Figura 3 – Carcinoma ductal invasivo mal diferenciado, grau 3. O tumor é negativo para ambos os receptores hormonais (RE e RP); positivo para o HER-2 (escore 3+) e com alto índice proliferativo (Ki-67 = 50%). (original 400X)



DISCUSSÃO

A história natural do câncer de mama ainda não é bem compreendida, já que seu comportamento evolutivo não se reproduz de maneira uniforme em todas as mulheres. Devido a esta divergência comportamental de alguns tumores que possuem as mesmas características clínicas, é importante estudar mais fatores prognósticos que envolvem o seu contexto geral. Assim, têm-se além do diagnóstico da doença em si, aspectos clínicos e biológicos que se associam as diferenças de tempo livre de doença e a sobrevida global. (11)

A identificação apropriada de fatores de prognósticos e parâmetros preditivos de responsividade a tratamento específico continua a ser um desafio na individualização da melhor terapêutica para cada paciente. (12) Uma série de recomendações para seleção de terapias sistêmicas adjuvantes foi recentemente proposta na *9th International Conference on Adjuvant Therapy of Primary Breast Cancer*, em Saint Gallen, Suíça. (13)

Dentre as substâncias biológicas que se expressam nos carcinomas da mama destacam-se os receptores hormonais de estrógeno e progesterona, a proteína anômala p53 e a amplificação do oncogene Her-2 ou superexpressão da proteína Her-2/neu. (14)

A idade da paciente na época da confirmação do diagnóstico é importante por estar diretamente relacionada ao *status* menopausal e, conseqüentemente, à ação hormonal no crescimento tumoral. Mulheres mais velhas, na pós-menopausa, com câncer de mama têm aumento da concentração de RE no tumor e estes geralmente são bem diferenciados e com baixa taxa de proliferação. (15) No presente estudo, observou-se que a idade variou de 22 ± 90 anos, a média foi de 49 anos, abaixo da média encontrada na literatura. Van Belle et al. (16) no seu levantamento mostraram uma média de 57 anos de idade. Estudos demonstraram que mulheres jovens, principalmente antes dos 35 anos, têm um pior prognóstico em relação a mulheres mais velhas, na pós-menopausa. (17) Os tumores grandes, onde há envolvimento ganglionar, negativos para RE, com fase S aumentada e anormalidade do p53 são frequentes na idade entre 30 a 35 anos. (15) Em análise multivariada, com associação de outros fatores de prognóstico, ambos os estudos concluíram, que pacientes jovens têm maior tendência a recorrência e morte. (15,17) Na casuística atual, 38 pacientes tinham abaixo de 40 anos, representando 18,4%, o que é consistente com o crescente aumento do câncer de mama em pacientes mais jovens, possivelmente devido as mudanças no estilo de vida da mulher moderna. (18) Do mesmo modo, outro estudo com análise multivariada concluiu que mulheres jovens têm um pior prognóstico, com aumento de risco de recorrência e morte. (19) Na presente amostra houve associação do grupo de alto risco (grupo 1) com pacientes mais



jovens, abaixo de 40 anos, ($p=0,010$). Porém, nos estudos de Slamon, (20) Dati, (21) Clark (22) e no estudo de Farzadnia et al. (23) não havia correlação entre a idade e status de receptores hormonais e a proteína Her-2.

No tocante a raça, as mulheres de ancestrais afro-americanas apresentam-se em um estágio mais avançado e com maior índice de mortalidade comparado com as mulheres brancas. (24) Outros autores têm demonstrado que pacientes negras ou hispânicas apresentam tumores avançados, com linfonodos positivos ao diagnóstico e com fatores indicativos de maior agressividade biológica, como receptores negativos e índice de proliferação alto. (25) Um número cada vez maior de câncer é observado em mulheres negras do que nas brancas em pacientes abaixo de 40 anos de idade, e normalmente apresentam um grau nuclear maior, e são frequentemente negativos para os receptores hormonais, e para proteína do Her-2 e sofrem diferentes tipos de mutações esporádicas do p53. (26) Neste estudo, entre as pacientes que puderam ser avaliadas (176), a raça negra foi acometida em 91 casos (51,7%). Nessas pacientes houve associação com fatores imunoistoquímico de alto risco/ grupo 1 ($p=0,002$). Estudos populacionais mostraram que mulheres negras e hispânicas com câncer de mama têm pior prognóstico em relação às brancas. Existe uma alta prevalência de tumores triplo-negativos em pacientes jovens e negras. (27) No consenso da Sociedade Americana de Oncologia Clínica (ASCO) e das sociedades européias (ESMO e ECCO), sugerem-se que o padrão imunohistoquímico triplo-negativo é mais frequentemente encontrado em tumores de mama das mulheres negras do que nas das brancas ou hispânicas. (28) Nesta amostra, foi evidenciado que os tumores triplo negativo em pacientes de cor negra, foram encontrados em 25 (11,9%) das 38 pacientes com este perfil de imunofenótipo. Os estudos que comparam diferentes grupos étnicos com o mesmo estadiamento e submetidos a tratamentos equivalentes mostraram que as mulheres negras e hispânicas continuam com pior prognóstico. (27)

A maioria dos diagnósticos de câncer de mama é de tumores de histogênese ductal ou lobular e invasores. Os carcinomas ductais invasivos têm pior prognóstico e maior incidência de acometimento axilar. Eles constituem a maioria dos carcinomas invasores da mama, correspondendo a cerca de 80% dos casos. (29) Na nossa casuística o tipo histológico ductal foi encontrado em 195 pacientes (92,4%). O índice de sobrevivência de 30 anos de mulheres com tipos especiais de carcinomas invasivos (tubular, mucinoso, medular, lobular e papilar) é maior que 60%, comparado com menos de 20% nas mulheres com carcinoma ductal invasivo do tipo comum. (30) Dentre os tipos histológicos especiais o papilar puro, tubular e mucinoso que surgem em torno de 2%, são os que apresentam melhor prognóstico. (31) Na amostra atual, os tipos especiais foram encontrados em apenas cinco pacientes (2,4%). O carcinoma



lobular invasivo, o qual surge em aproximadamente em 10% dos casos, apresenta características biológicas e clínicas diferente, pois ocorre em pacientes mais idosas, são tumores maiores e mostram maior imunoexpressão para RE ou RP, e associam-se com fração da fase S baixa e Her-2, p53 negativos. (31,32) No carcinoma lobular foi encontrado em número restrito de pacientes 11 (5,2%), e por isso, não foi verificada associação com os grupo de alto ou de baixo risco.

O tamanho tumoral é um fator essencial para estabelecer um prognóstico para as pacientes. Existe uma correlação direta entre tamanho tumoral, acometimento axilar e taxa de recorrência da doença. O tamanho do tumor guarda relação direta com o comprometimento axilar. O diâmetro do tumor é o segundo fator de prognóstico em grau de importância e é independente da condição do linfonodo. (29) Muitos estudos têm demonstrado uma relação entre o tamanho tumoral e sobrevida. (34) O índice de sobrevida de mulheres com tumor menor que 1cm em 10 anos é de aproximadamente 90%. De outro modo, mais da metade das mulheres com câncer maiores que 2 cm terão maior probabilidade de comprometimento linfonodal, e muitas irão a óbito. (29) O tamanho médio encontrado no estudo atual foi de 3,79 cm, semelhante ao encontrado por Uemura et al, que foi de 3,42 cm. (35) Os tumores estágio T2 foram encontrados em 96 (46,2%) pacientes e aqueles tidos como T1, em 62 (29,1%) pacientes. É possível que tumores que crescem muito rapidamente em tamanho e sem metástases linfonodais, tenham baixa probabilidade de metástase a distância. (36) Pode-se observar, que mais de 70% dos tumores, foram encontrados em estádios iniciais o que possibilitou cirurgias conservadoras, menos mutilantes. Não foi evidenciada qualquer correlação do tamanho tumoral com grupo 1 de alto risco e grupo 2 de baixo risco. Diferentemente, Bacha et al. (37) encontraram relação dos diferentes imunofenótipos (RE, RP e Her-2) com tamanho de tumores T3 e T4.

Com relação ao estadiamento patológico, o estágio I foi observado em 58 (27,3%) pacientes, o estágio II correspondeu a 97 (45,9%) pacientes e o estágio III a 52 (24,9%). Correlacionado o estágio patológico com o grupo 1 de alto risco ou o grupo 2 de baixo risco, não foi evidenciada qualquer relação. Por outro lado, Bacha et al. (37) encontraram uma associação estatisticamente significativa entre o tamanho tumoral e a positividade para a proteína do HER-2(3+). Farzadnia et al. (23) não encontraram correlação entre o pior estágio tumoral e a imunoexpressão do HER-2. Nos estudos de Yuan (38) e Imoto (39), foi observada correlação entre o tamanho tumoral e o proto-oncogene Her-2. Em outro levantamento, realizado por Richi et al. (40) não foi evidenciada relação estatisticamente significativa entre os fatores morfológicos (tamanho tumoral, tipo e grau histológicos) ou moleculares



(RE/RP/HER-2/Ki-67/P53) e a ocorrência de metástases. Postula-se que existe uma relação contínua entre tumores com baixa velocidade de crescimento, com envolvimento linfonodal axilar tardio e os tumores mais agressivos com metástase precoce para axila. (41)

A ocorrência de metástases em linfonodos axilares é considerada o mais poderoso e independente parâmetro de prognóstico no câncer de mama, na ausência de metástase à distância. (42) O acometimento axilar é indicação de terapêutica sistêmica adjuvante. Já nas pacientes com linfonodos axilares negativos é importante a avaliação de outros fatores de prognósticos tais como o tamanho tumoral, grau histológico, receptores hormonais, idade da paciente e alguns marcadores de proliferação celular para determinar o manuseio terapêutico.

Quando os linfonodos encontram-se livres de neoplasia, o índice de sobrevida livre de doença em 10 anos é de aproximadamente de 70 a 80%, nas pacientes com 1 a 3 linfonodos comprometidos é de 35 a 40% e naquelas com mais de 10 linfonodos comprometidos é de 10 a 15%. A sobrevida em cinco anos para pacientes com axila negativa é de 82% comparada com 45% para as pacientes com 4 a 12 linfonodos comprometidos de acordo com o *National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project* (NSABP). (43,44) Com a evolução do tratamento cirúrgico do câncer de mama, a técnica do linfonodo sentinela tem se tornado prática cada vez mais comum para avaliação axilar em tumores pequenos. O uso da biópsia do linfonodo sentinela é uma alternativa para abordagem da axila, sem aumentar os custos e evitando as complicações da dissecação axilar. (45) Com relação ao número de linfonodos envolvidos no nosso levantamento, a grande maioria das pacientes, 111 (52,1%), não tinham comprometimento axilar, seguido de 1 a 3 linfonodos comprometidos, em 51 (24,0%). Nas pacientes que tinham entre de 4 e 9 linfonodos comprometidos 31 (15,7%) e nas pacientes com mais de 10 linfonodos 18 (8,6%), houve associação com o grupo de alto risco /grupo 1, com uma diferença significativa ($p=0,041$). Os achados do presente estudo são semelhantes ao de Cancellato et al. (46), que mostraram existir associação nas pacientes que tinham acima de 4 linfonodos comprometidos e imunofenótipos de alto risco ($p=0,08$). Bacha et al. (37) verificaram que havia nas pacientes que tinham mais de 10 linfonodos comprometidos, uma correlação com Her-2 positivo, ($p=0,044$). No trabalho de Wang et al. (44) foram observados uma relação significativa entre os casos que tinham receptores negativos e Her-2 positivo com axila positiva ($p=0,039$).

Em relação à categoria mamográfica BI-RADS®, a grande maioria das pacientes enquadraram-se no BI-RADS 4 com 121 (57,9%) pacientes, seguidas pela categoria BI-RADS 5 com 72 pacientes (35,3%). Quando no presente estudo, o BI-RADS foi



correlacionado com o grupo 1 (alto risco) e o grupo 2 (baixo risco), não foi evidenciada diferença significativa. Porém, Wang et al. (47) estudando 267 pacientes com câncer de mama, ao correlacionar 40 pacientes que tinham imunofenótipos triplo negativo ($RE^{\ominus}/RP^{\ominus}/Her-2^{\ominus}$) e com os achados mamográficos de imagem nodular, com margens indistintas e distorção arquitetural, sugeriram mais rápida evolução dos tumores dessas pacientes. Na nossa casuística, pela avaliação do tamanho tumoral, exame histológico e classificação do BI-RADS, foi definido o tipo de procedimento cirúrgico realizado nas pacientes. Observou-se que a cirurgia de quadrantectomia com linfonodo sentinela foi a opção escolhida em 58 (27,4%) pacientes, a quadrantectomia com esvaziamento axilar foi realizada em 27 (12,8%) pacientes, e as técnicas de oncoplastia e reconstrução imediata com ou sem utilização de implante mamário foram conduzidas em 45 (20,94%) pacientes. Estes dados demonstram que têm ocorrido menos cirurgias mutiladoras, mesmo no nosso meio, devido principalmente ao diagnóstico precoce do câncer de mama. A utilização das técnicas de oncoplastia em muitos dos casos, visa tratamento mínimo e efeito máximo, sempre respeitando os princípios da cirurgia oncológica clássica. A cirurgia de mastectomia foi utilizada em 81 (38,57%) pacientes. Os nossos achados são semelhantes ao de Cancellato et al., (46) em 2.970 pacientes operadas no período 2000 até 2004, onde realizaram cirurgia conservadora em 74% e mastectomia em 26% das suas pacientes. Curigliano et al. (48) em um estudo de 150 casos de tumores em estágio clínico I, realizaram 64% de cirurgias conservadoras e 36% mastectomias. Nesse artigo verificaram, que pacientes com axila negativa, Her-2 positivo e tumores em estágio inicial, têm uma baixa incidência de recorrência em seguimento de 5 anos. Diferentemente, no trabalho de Vallejos et al. (49) em um total de 1.198 pacientes com câncer de mama, em cerca de 70 e 75% das pacientes foi realizada cirurgia de mastectomia radical e no restante procedeu-se a cirurgia conservadora. No nosso material não foi verificada correlação com grupo 1 de alto risco e grupo 2 de baixo risco com o tipo de cirurgia.

A disseminação do câncer de mama é um acometimento muito frequente, pois desde o momento do diagnóstico, cerca de 5% das pacientes se apresentam com doença a distância. (50) Os locais mais frequentes de metastatização são partes moles, ossos, fígado e pulmões. (51) Nas pacientes que receberam terapia adjuvante há redução significativa do percentual de recidivas da doença local ou das partes moles. A doença na fase metastática, sempre apresenta um prognóstico desfavorável, com sobrevida média variando entre 24 e 42 meses e taxa de sobrevida média em 5 a 10 anos. Os objetivos do tratamento da doença metastática são fundamentalmente prolongar a sobrevida e a palição dos sintomas. Durante o período de



estudo da casuística presente, todas as pacientes foram acompanhadas e avaliadas no seguimento da presença ou ausência de metástase à distância. Foi evidenciada metástase em 34 pacientes, o que representou 16,2% e sua ausência em 177 pacientes que representou 83,8%. O local mais frequente de metástase foi a ossea em 11 pacientes, com percentagem de 5,2%, seguida de metástase pulmonar seis pacientes (2,8%). Em um levantamento interessante de Koo et al. (52) em 34 casos de câncer de mama metastático, foram observados diferentes tipos de resultados imunohistoquímicos nos diferentes sítios metastático. Nas lesões hepáticas o imunofenótipo $RE^{\oplus}/RP^{\oplus}$ e $Her-2^{\ominus}$ era o mais predominante, na metástase cerebral o tipo HER-2 superexpresso era o mais comum. Nas lesões ósseas predominaram os tumores triplo negativos. No levantamento atual, não foi verificado uma correlação da presença ou ausência de metástase com o grupo 1 de alto risco ou grupo 2 de baixo risco.

Ao lado de parâmetros clássicos como o estadiamento TNM e os marcadores de proliferação celular, outros marcadores tumorais têm sido utilizados para à predição do comportamento tumoral e também da resposta à terapêutica no câncer de mama. Dentre os marcadores aferidos pelo exame de imunoistoquímica, os mais utilizados na prática clínica são os receptores hormonais e o Her-2. (53) A célula normal de mama apresenta receptores de estrógeno e progesterona em seus núcleos e são detectados através do método de imunoistoquímica. O nível de receptores para hormônios esteróides, estradiol (RE) e/ou progesterona (RPg) no tecido tumoral constitui forte indício do grau de dependência hormonal da neoplasia mamária. (7) As mulheres com cânceres positivo para os receptores hormonais têm um prognóstico levemente melhor do que as mulheres com carcinomas negativos aos receptores hormonais. (54) A avaliação dos receptores hormonais é mais valiosa para predizer resposta à terapia, havendo uma excelente resposta a terapia hormonal nos casos positivos, e pouca ou nenhuma resposta a este tipo de tratamento nos casos negativos. (55) A superexpressão da proteína do Her-2 está associada a um prognóstico ruim, porém sua avaliação tem sido mais utilizada para determinar a resposta à terapia específica. No presente estudo, foi mais frequente o imunofenótipo $RE/RP^{\oplus}/Her-2^{\ominus}$ em 83 (39,5%) pacientes. Este grupo é considerado de bom prognóstico em relação aos outros, seguido pelo padrão de $RE^{\oplus}/RP^{\ominus}/Her-2^{\ominus}$, que foi encontrado em 21 pacientes com um percentual de 9,3%, com um total de 104 (48,7%) das pacientes enquadradas no grupo 2.

No tocante ao resultado da imunoistoquímica relacionado as pacientes de alto risco (grupo 1), tivemos um imunofenótipo $RE^{\ominus}/RP^{\ominus}/Her-2^{\ominus}$ em 38 (18,0%) pacientes, seguido pela imuno $RE^{\ominus}/RP^{\ominus}$ e $Her-2^{\oplus}$ em 34 (16,1%) pacientes, e pelo imunofenotipo $RE^{\oplus}/RP^{\oplus}$



/Her-2⁺ foram encontrados em 26 (12,7%), e finalmente o RE⁺/RP⁻/Her-2⁺ em 9 (4,28%) pacientes com um total de 107 (51,3%). Os tumores triplo-negativos representam cerca de 15% do total dos tumores da mama e acometem com maior frequência pacientes jovens, habitualmente antes da menopausa. (56) Vallegos et al. (49) em levantamento de 1.524 pacientes onde verificaram que aproximadamente metade de todos os casos foram classificados como RE⁺/RP⁺ e Her-2⁻ correspondendo a 49,3% e a cerca de 13,2%, foram identificados como RE⁺/RP⁺/Her-2⁺. O imunofenótipo triplo negativo (RE⁻/RP⁻/Her-2⁻) foi evidenciado em 21,4% das pacientes, demonstrando um resultado muito semelhante ao encontrado no nosso trabalho. Wang et al. (47) encontraram o imunofenótipo triplo negativo em 16,9% das 835 pacientes com câncer de mama, e que essas pacientes estão mais predispostas a desenvolver metástase à distância. Em outro levantamento na Universidade de Chicago com 1.550 mulheres com câncer de mama diagnosticado entre 1998 e 2003, foi verificado que a maioria das pacientes tinham imunofenótipo RE/RP positivo e HER-2 negativo em 44,5%, e os casos triplo positivos foram encontrados em 9% e os triplo negativos em 12% das pacientes. (59)

Em recente revisão, Cartey et al. (34) apresentaram prevalência do Her-2 positivo entre 0 e 38%, com média de 18%, em mulheres com câncer de mama. Neste estudo, encontramos positividade de 34 (16,2%) das pacientes, dentro da média acima referida.

Novas técnicas de biologia molecular permitem a determinação de verdadeiras assinaturas genéticas do tumor, ao analisar milhares de genes simultaneamente. Surge nova era de fatores prognóstico e preditivos na resposta ao tratamento do câncer de mama. (58) Esses tumores são classificados em cinco subtipos: luminal A, luminal B, epitelial normal, basal e com superexpressão do Her-2. Foi verificado que os tumores de bom prognóstico são o luminal A e B e epitelial normal, ao passo que a evolução é pior no tipo basal e no superexpressor de Her-2. Apesar de não ter sido realizado estudo de assinatura genética neste estudo, tentou-se classificar de acordo com os critérios imunoistoquímico os diferentes grupos. De acordo com os marcadores imunoistoquímicos RE, RP e Her-2, provavelmente teríamos o Luminal A em 83 (39,52%) pacientes, o Luminal B em 26 (12,75%) pacientes, a superexpressão do Her-2 em 34 (16,19%) e o basal (triplo negativo) em 38 (18,0%) pacientes. Existem trabalhos que utilizam a imunohistoquímica na tentativa de prever esses grupos genéticos, todavia são necessários estudos prospectivos de grande porte para verificar a correlação entre esses achados e a classificação genética. (59) O método de assinatura genética trouxe mais informações prognósticas independentes em relação aos fatores prognósticos clínico-patológicos. (59) Estudos indicam que a amplificação gênica e a



superexpressão da proteína Her-2 possuem um papel fundamental na transformação oncogênica, gênese tumoral e metástases. (60) Acredito que em futuras pesquisas, possamos associar os diferentes imunofenótipos isoladamente com as características clínico-patológicas e assinatura genética das pacientes portadoras de câncer de mama invasivo, para conseguir melhor avaliação prognóstica e uma terapia adjuvante mais específica.

CONCLUSÕES

O presente trabalho permitiu concluir que houve correlação significativa entre o imunofenótipo de alto risco /grupo 1 com idade mais jovem (≤ 40 a), raça negra, e maior comprometimento de linfonodos axilares (≥ 10 linfonodos positivos).

REFERÊNCIAS

1. Tavassoli, FA. Normal development and anomalies of the breast. In: Tavassoli Pathology of the Breast; 2003. p45.
2. American Cancer Society. Leading sites of new cancer cases and deaths-2007 estimates. Available at: www.cancer.org/download/stt/leading_Sites_of_New_Cancer_Cases_and_Deaths.
3. Page DL, Dunpont WD. Anatomic markers of human premalignancy and risk of cancer. Cancer. 1990; 66:1326-35.
4. Laura J van't VEER, Hongyue DAI, Marc J van de VIJVER, Yudong DHE, Augustinus AMH, Mao M, Hans LP, Karin van der KOOY, Matthew JM, Anke TW, George JS, Ron MK, Chris R, Peter SL, René B, Stephen HF. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. Nature. 2002; 415: 530-6.
5. Page DL, Jensen RA, Simpson JF. Routinely available indicators of prognosis in breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 1998; 51:195-208.
6. Simpson JF, Page DL. Prognostic value of histopathology in the breast. Semin. Oncol. 1992; 19: 254.
7. Reis-Filho JS, Westbury C, Pierga JY. The impact of expression profiling on prognostic and predictive testing in breast cancer. J Clin Pathol. 2006; 59: 225-31.
8. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, McShane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R, Vance GH, van de Vijver M, Wheeler TM, Hayes DF. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists. Guideline recommendation for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. J Clin Onco. 2007; 25:118-450.



9. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. J Clin Oncol 2010.
10. American college of radiology-ACR. Mamomography.in; Illustrated breast imaging reporting on data system-BIRADS.4 ed. reston americano f radiology, 2003
11. Pascalicchio J, Fristachi C, Baracat F. Câncer da mama: fatores de risco, prognósticos e preditivos. Rev Bras Mastol. 2001;11:71-84.
12. Colleoni M, Rotmensz N, Peruzzotti G, Maisonneuve P, Orlando L, Ghisini R, Viale G, Pruneri G, Veronesi P, Luini A, Intra M, Cardillo A, Torrisi R, Rocca A, Goldhirsch A. Role of endocrine responsiveness and adjuvant therapy in very young women (below 35 year) with operable breast cancer and negative disease. Ann Oncol. 2006;17:1497-503.
13. Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. Ann Oncol 2009; 20: 1319-29.
14. Sales RA, McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors in breast cancer. Semin Surg Oncol. 1989; 5: 102-10.
15. Albain KS, Allred DC, Clark GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? J Natl Cancer Inst Monogr. 1994; 16: 35-42.
16. van Belle V, van Calster B, Brouckaert O, Vanden Bempt I, Pintens S, Harvey V, Murray P, Naume B, Wiedswang G, Paridaens R, Moerman P, Amant F, Leunen K, Smeets A, Drijckoningen M, Wildiers H, Christiaens MR, Vergote I, Van Huffel S, Neven P. Qualitative assessment of the progesterone receptor and her-2 improves the Nottingham Prognostic Index up to 5 years after breast cancer diagnosis. J Clin Oncol. 2010; 28:4129-34.
17. Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF, Gelman R, Connolly JL, Schnitt S, Abner A, Recht A, Vicini F, Harris JR. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. J Clin Oncol. 1994;12:888-94.
18. Colonna M, Delafosse P, Uhry Z, Poncet F, Arveux P, Molinie F, Cherie-Challine L, Grosclaude P. Is breast cancer incidence increasing among young women? An analysis of trend in France for the period 1983-2002. Breast 2008;17:213-16.
19. Sidoni A, Cavaliere A, Bellezza G, et al. Breast cancer in young women: clinic-pathological features and biological specificity. Breast. 2003;12:247-50.



20. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the Her-2/neu oncogene. *Science*. 1987;235:177-82.
21. Dati C, Muraca R, Tazartes O, Antoniotti S, Perroteau I, Gai M, Cortese P, Sismondi P, Saglio G, De Bortoli M. C-erb-2 and ras expression levels in breast cancer are correlated and show a co-operative association with unfavorable clinical outcome. *Int J Cancer*. 1991;47:833-88.
22. Clark GM. Interpreting and integrating risk factors for patients with primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2001:17-21.
23. Farzadnia M, Meibodi NT, Shandiz Fh, Mahmoudi M, Bahar M, Memar B, Amoian S, Maroozi F, Moheghi N. Evaluation of her-2/neu oncoprotein in serum and tissue samples of women with breast cancer: correlation with clinicopathological parameters. *Breast* (1-4)2010.
24. Newman La, Mason J, Cote D, Vin.Y, Carolin K, Bouwman D, Colditz GA. African, American ethnicity, socioeconomic status and breast cancer survival. *Cancer survival*. *Cancer*. 2002; 94: 2844.
25. Elledge Rm, Clark Gm, Chamness GC, et al. Tumor biologic factors and breast cancer prognosis among white, Hispanic and black women in the United States. *J Noth Cancer Inst*. 1994;86:705-712
26. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006;295(21):2492-2502
27. Lund MJ, Triers KF, Pater PL et al. Race and triple negative threats to breast cancer survival a population based study in Atlanta, GA. *Breast Cancer Res. Treat* (2009)113:357-370
28. Lesley A. Stead, Timothy L. Lash, Jerome E., et al. Triple-negative breast cancer are increased in black women. *Breast Cancer Research*. 2009, 11; R18.
29. Tavassoli FA, Devilee P. editors. Pathology and genetics of tumors of the breast and female genital organs. Lyon: WHO/IARC; 2003.
30. Simpson JF, Page DL. Prognostic value of histopathology in the breast. *Semin. Oncol*, 19; 254, 1992.
31. Diab SG, Clark GM, Osborne CK, et al. Tumor characteristics and clinical outcome of tubular and mucinous breast carcinomas. *J. Clin. Oncol*. 1999;17:1442-1448
32. Arpino G. et al. Infiltrating lobular carcinoma of the breast: tumor characteristics and clinical outcome. *Breast*. v.6, p.149-156, 2004.



- 33.Tot T.The diffuse type of lobular carcinoma of invasive the breast:morphology and prognosis.Wirchows Arch 2003;443:718-24
- 34.Carter CL, Allen C,Henson DE. Relation of tumor size,lymph node status and survival in 24.740 breast câncer cases.Cancer,1989;63:181-187.
- 35.Uemura G, Luca L, et al.Um estudo da expressão de marcadores imunohistoquimico e fatores anatomoclinicos de câncer de mama em pacientes axila negativas.Rev.Bras.Mast.2003;3(3):127-32
- 36.Fischer B, Slack NH,Bross ID.Cancer of the breast:size neoplasm and prognosis.Cancer 2001;93:112-120
- 37.Bacha OM, Zettler CG,Gonzales F,Grossmann S.Associação do c-erb-2 com linfonodos axilares e outros fatores prognósticos no câncer de mama.Rev.Bras.Oncol.2004;(3):31-4
- 38.Yuan P,Xu BH,Zhang C,QI J.Serum her-2/neu level and related factors in patients with breast cancer.Cancer,1991;51:944-8
- 39.Imoto S,Kitoch T,Hasebe T.Serum c-erb-2 levels in monitoring of operable breast cancer patients.Japan J.Clin Oncol.2007;29(7):336-9
- 40.Richi MS, Junqueira PAA. Marcadores moleculares em câncer de mama preditivos de metástases axilares. Rev Assoc Med Bras. 2008;54(3):189.
- 41.Veronesi U, Galimberti V, Zurrida S et al. Prognostic significance of number and level al axillary nome metastases in breast cancer. Breast. v.2, p.224-228, 1993
- 42.Viale G,Path FECF,Maiorano E,et al.Predicting the risk for additional axillary metastases in patients with breast carcinoma and positive sentinel lymph node biopsy.Ann Surg 2005;241:319-25
- 43.Fisher ER, Sass R, Fischer B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Project for Breast Cancer (Protocol 04). Cancer. 1984; 53:712-23.
- 44.Fisher B. et al. Relation of the number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. An NSABP Update. Cancer. 1983; 52:1551-7.
- 45.Giuliano AE.Intradermal blue dye to identify sentinel lymph node in breast cancer.Lancet,1997;350:958
- 46.Cancello G, Maisonneuve P, Rotmensz N, Viale G, Mastropasqua MG, Pruneri G, et al. Prognosis and adjuvant treatment effects in selected breast cancer subtypes of very young women (<35 years) with operable breast cancer. Ann Oncol. 2010;21(10):1974-81.
- 47.Wang SL,Li YX,Song YW,Wang WH et al.Triple-negative or Her-2 positive status predicts higher rates of locoregional recurrence in node-positive breast cancer patients after mastectomy.Int.JRadiation Oncology,2010;1-7



48. Curigliano G, Viale G, Bagnardi U, et al. Clinical Relevance of Her-2 Overexpression/Amplification in patients with small tumor size and node negative breast cancer. *JCO*, 2009;27:5693-9.
49. Vallejos CS, Gomez HC, Cruz WR, Pinto JA, Dyer RR, Velarde R, et al. Breast cancer classification according to immunohistochemistry markers: subtypes and association with clinicopathologic variables in a Peruvian Hospital database. *Clin Breast Cancer*. 2010;10(4):294-300.
50. National Cancer Statistic Review: 1973-1989. NIH Pub. No. 92-2789. NCI Bethesda, MD, 1992
51. Valagussa P, Bonadonna G, Veronesi U. Patterns of relapse and survival following radical mastectomy. Analysis of 716 consecutive patients. *Cancer*. 1978;41(3):1170-8.
52. Koo S, Jung W, Jeong J. Metastatic Breast Cancer shows different immunohistochemical phenotype according to metastatic site. *Tumori*, 2010, May-Jun;96(3):424-37
53. Moriya T, Kozuka Y, Kanomata N et al. The role of immunohistochemistry in the differential diagnosis of breast lesions. *Pathology*, 2009;41:68-76.
54. Gaforio J, Serrano MJ, Sanches P, Sirvent A, Delgado Rodriguez M, De La Torre N, Algarra I, Duenas R, Lagana A. Detection of breast cancer cells in peripheral blood is positively correlated with estrogen receptor status and predicts for poor prognosis. *Int J Cancer*, Dec 20;(07/6):984-90. 2003
55. Anderson WF, Chatterjee N, Ershler WB et al. Estrogen receptor breast cancer phenotypes in the Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Breast Cancer Res Treat* 2002;76:27-36
56. Bacchi LM, Corpa M, Bacchi CE, Carvalho FM. Caracterização anatomo-patológica e imunofenotípica de carcinoma de mama em mulheres jovens. *Rev Bras Mast*. 2009;19:42-6.
57. Clark GM. Prognostic and predictive factors in: diseases of the breast (Harris JR) Philadelphia: Lippincott, 2010, 461-81.
58. Perou CM et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406: 747-52.
59. Edén P, Ritz C, Rose C, Fernö M, Peterson C. Good Old clinical markers have similar power in breast cancer prognosis as microarray gene expression profilers. *Eur J Cancer*. 2004;40:1837-41.
60. Dowsett M, Cooke T, Ellis I, Gullick WJ, Gusterson B, Mallon E, Walker R. Assessment of Her-2 status in breast cancer: why, when and how? *Eur J Cancer*. 2000; 36:170-6.



CONSIDERAÇÕES FINAIS



O estudo dos fatores de prognósticos do câncer de mama é fundamental, como forma de prever evolução da doença bem como instituir terapêuticas específicas que resultarão na melhora na sobrevida livre da doença e sobrevida global das mulheres acometidas pelo câncer de mama. Atualmente observa-se cada vez mais, que o estudo da biologia molecular, incluindo assinatura genética, têm sido importante para definir a sensibilidade terapêutica e estudar melhor tumores pequenos, axila livre e considerados de bom prognóstico, podem recorrer, e outros, às vezes considerados complicados, exibem evolução favorável. A avaliação de marcadores imunoistoquímicos têm uma grande importância para auxiliar no diagnóstico do câncer mamário e permite a identificação de grupos de pacientes de pior prognóstico. É importante, não basear um diagnóstico exclusivamente dos resultados das reações da imunoistoquímica. É necessário compara-los com os achados histopatológicos e com os dados clínicos e de imagem do caso.



REFERÊNCIAS



ADAI, F. et al. Long term follow-up of breast cancer patients: the 30-year report. **Cancer**, New York, v.33, n. 4, p.1145-1150, 1974.

ALBAIN, K.S.; ALLRED, D.C.; CLARK, G.M. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? **Journal of the National Cancer Institute Monograph**, United States, v.16, n. 1, p.35-42, 1994.

AL-RAWI, M.A.A.; MANSEL, R.E.; JIANG, W.G. Molecular and celular mechanisms of lymphangio-genesis. **European Journal of Surgical Oncology**, New York, v.31, n.2, p.117-121, 2003.

ALLRED, D.C. et al. Accumulation of mutant p53 in association with increased proliferation and poor clinical outcome in node negative breast cancer. **Journal National Cancer Institute**, New York, v. 85, n.3, p.200-226, 1993.

ALLRED, D.C. et al. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. **Modern Pathology**, United States, v.11, n.2, p.155-168, 1998.

ALVARENGA, M. Tumores da mama. In: BILLIS, A.V.J. (editor). **Patologia diagnóstica de tumores**. São Paulo: Biblioteca Digital da Unicamp; 2004. p.205-298.

AMERICAN CÂNCER SOCIETY. **Leading sites of new cancer cases and deaths-2005 estimates**. Available at: www.cancer.org/download/stt/leading_Sites_of_New_Cancer_Cases_and_Deaths.

ANDERSON, W.F. et al. Estrogen receptor breast cancer phenotypes in the surveillance, epidemiology, and end results database. **Breast Cancer Research and Treatment**, Boston, v. 76, n. 1, p.27-36, 2002.

ARPINO, G. et al. Infiltrating lobular carcinoma of the breast: tumor characteristics and clinical outcome. **Breast**, United States, v.6, n. 3, p.149-156, 2004.

BACHA, O. M. et al. Associação do c-erb-2 com linfonodos axilares e outros fatores prognósticos no câncer de mama. **Revista Brasileira de Oncologia**, Rio de Janeiro, v.4, n. 3, p.31-34, 2004.

BACCHI, L. M. et al. Caracterização anatomicopatológica e imunofenotípica de carcinoma de mama em mulheres jovens. **Revista Brasileira de Mastologia**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 2, p. 42-46, 2009.



BANER, J.C.E.M. et al. Tree-based model for breast câncer prognostication. **Journal of Clinical Oncology**, Alexandria, v.22, n. 13, p.2567-2575, 2004.

BARROS, A.C.S.D.; BUZAID, A.C. Câncer de mama: **tratamento multidisciplinar**. São Paulo: Dendrix edição e design; 2007. p.47.

BERRY, D. A. et al. Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer. **New England Journal of Medicine**, United States, v.353, n. 17, p. 1784-1792, 2005.

BIRNBAUM, D. et al. Basal and luminal breast cancers: basic or luminous? **International Journal of Oncology**, Greece, v.25, n.2, p.249-58, 2004.

BLACK, R.J. et al. Cancer incidence and mortality in the European Union: Cancer Registry data and estimates of National Incidence for 1990. **European Journal of Cancer**, Oxford, v.33, n.7, p.1075-1107, 1997.

BOFF, R.A; WISINTAINER, F. Mastologia Moderna: **abordagem multidisciplinar**. 2ª ed. Caxias do Sul: Editora Mesa Redonda; 2006.

BRAUN, S.; NAUME, B. Circulating and disseminated tumor cells. **Journal of Clinical Oncology**, Alexandria, v. 23, n. 8, p.1623-1626, 2005.

CARTER, C. L; ALLEN. C.; HENSON, D. E. Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24.740 breast câncer cases. **Cancer**, New York, v.63, n.1, p.181-187, 1989.

CAREY, L. A. et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. **Journal of the American Medical Association**, United States, v. 295, n. 21, p.2492-2502, 2006.

CATTIORETTI, G.; RILKE, T.; ANDREOLA, S. P53 expression in breast cancer. **International Journal of Cancer**, United States, v.41, p.178-183, 1988.

CHANG, J. et al. Survival of patients with metastatic breast carcinoma. **Cancer**, New York, v.97, n. 3, p.545-53, 2003.

CLARK, G. M.; MCGUIRE, W. L. Follow-up study of Her-2/neu amplification in primary breast cancer. **Cancer Research**, United States, v.51, n. 3, p.944-948, 1991.



CLARK, G. M. Interpreting and integrating risk factors for patients with primary breast cancer. **Journal of the National Cancer Institute Monograph**, United States, p.17-21, 2001.

CLARK, G. M. Prognostic and predictive factors. In: HARRIS, J.R. (editor). **Diseases of the breast**. Philadelphia: Lippincott; 2010. p.461-81.

COLECCHI, P. et al. Primary chemotherapy in locally advanced breast cancer: effects on tumor proliferative activity, bcl-e expression and the relationship between tumor regression and biological markers. **European Journal of Cancer**, United States, v.34, n.11, p:1701-1704, 1998.

COLLEONI, M. et al. Role of endocrine responsiveness and adjuvant therapy in very young women (below 35 year) with operable breast cancer and negative disease. **Annals of Oncology**, Switzerland, v.17, n.10, p.1497-1503, 2006.

COLONNI, M. et al. Is breast cancer incidence increasing among young women? An analysis of trend in France for the period 1983-2002. **Breast**, United States, v.17, n. 3, p.213-216, 2008.

DAWSON, P.; FERGUNSON, D. J.; KARRINSON, T. The pathological findings of breast cancer in patients surviving 25 years after mastectomy. **Cancer**, New York, v.50, n.1, p.2131-2138, 1982.

DATI, C. et al. C-erb-2 and ras expression levels in breast cancer are correlated and show a co-operative association with unfavorable clinical outcome. **International Journal of Cancer**, United States, v. 47, n. 6, p. 833-838, 1991.

DAKO, 2010. Leading the way in cancer diagnosis. Available at: http://www.dako.com/br/ar39/p1015101/prad_products.htm

DEL GIGLIO, A.; BURGOS, A.R.M; WEINSCHENKER, P.B. O estudo da doença residual mínima em câncer de mama. **Revista Brasileira de Mastologia**, Rio de Janeiro, v.4, p.190-197, 2005.

DHINGRA, K.; HORTOBAGYI, G.N. Critical evaluation of prognostic factors. **Seminars in Oncology**, United States, v.23, n. 4, p.436-445, 1996.

DIAB, S. G. et al. Tumor characteristics and clinical outcome of tubular and mucinous breast carcinomas. **Journal of Clinical Oncology**, Alexandria, v.17, n. 5, p.1442-1448, 1999.



DOWSETT, M et al. Assessment of Her-2 status in breast câncer :why,when and how? **European Journal of Cancer**, United States, v.36, n. 2, p.170-176, 2000.

DUNKLER, D.; MICHIELS, S.; SCHEMPER, M. Gene expression profiling: does it add predictive accuracy to clinical characteristic in cancer prognosis? **European Journal of Cancer**, United States, v.43, n. 4, p.745-751, 2007.

DU TOIT, R.S. et al. An evolution of differences in prognosis recurrence patterns and receptor status between invasive lobular and other cancer. **European Journal of Surgical Oncology**, New York, n.17, n.3, p.251-257,1991.

EINSENBURG, A.J.A; KOIFMAN, S. Câncer de mama: marcadores tumorais. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v.47, n.4, 377-388, 2001.

ELLEOGE, R.M. et al.Tumor biologic factors and breast cancer prognosis among white, Hispanic and black women in the United States. **Journal of the National Cancer Institute**, United States, v.86, n.9, p.705-712, 1994.

ELSTON, C.W.; ELLIS, I.O. Pathological prognostic factors in breast cancer.The value of histological grade in breast cancer: Experience from a large study with long-term follow-up. **Histopathology**, England, v.19, n.5, p.403-410,1991.

FARZADNIA, M. et al. Evaluation of her-2/neu oncoprotein in serum and tissue samples of women with breast cancer: Correlation with clinicopathological parameters.**Breast**, United States, v.19, n.6, p.489-492, 2010.

FISHER, E.R.; SASS, R.; FISCHER, B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Project for Breast Cancer (Protocol 04). **Cancer**, New York, v.53, suppl. 3, p.712-723, 1984.

FISHER, B. et al. Relation of the number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. **Cancer**, New York, v.52, n.9, p.1551-1557, 1983.

FISCHER, B.; SLACK, N.H.; BROSS, I.D. Cancer of the breast:size neoplasm and prognosis. **Cancer**, New York, v.93, n.1, p.112-120, 2001.

GAFORIO, J. J. et al. Detection of breast cancer cells in peripheral blood is positively correlated with estrogen receptor status and predicts for poor prognosis. **International Journal of Cancer**, United States, v. 107, n. 6, p.984-990.2003.



GIULIANO, A. E. Intradermal blue dye to identify sentinel lymph node in breast cancer. **Lancet**, England, v.350, n. 9082, p.958, 1997.

GOLDHIRSCH, A. et al. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. **Annals of Oncology**, Switzerland, v.20, n. 8, p.1319-1329, 2009.

GONÇALVES, A.T.C. et al. Câncer de mama: mortalidade crescente na Região Sul do Brasil entre 1980 e 2002. **Caderno Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.23, n.8, p.1785-1790, 2007.

GLUZ, O. et al. Triple negative breast cancer. Cancer. Current status and future direction. **Annals of Oncology**, Switzerland, v. 20, n.12, p.1913-1927, 2009.

HAMMOND, M. E. et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, United States, v. 6, n. 4, p. 195-197, 2010.

HARVEY, J.M. et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, United States, v.17, n.5, p.474-481, 1999.

HAYES, D. F.; THOR, A. D. C-erbB-2 in breast cancer development of clinically useful marker. **Seminars in Oncology**, United States, v.29, n.3, p.231-245, 2002.

HENSON, D.E. et al. Relationship among outcome, stage of disease, and histologic grade for 22,616 cases of breast cancer: the basis for prognostic index. **Cancer**, New York, v. 68, p.2142-2149, 1991.

HILSENBACK, S.G. et al. Time-dependence of hazard ratios for prognostic factors in primary breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, New York, v.52, n. 1-3, p.227-237, 1998.

HURSHAUT, Y.; PRESSMAN, P. Breast cancer: The complete guide. New York: Bontom; 1996.

IMOTO S, KITOCH T, HASEBE T. Serum c-erbB-2 levels in monitoring of operable breast cancer patients. Japan **Journal of Clinical Oncology**, United States, v.29, n. 7, p.336-339, 2007.



JOHNSON-THOMPSON, M, C.; GUTHRIE, J. Ongoing research to identify environmental risk factors in breast carcinoma. **Cancer**, New York, v.88, suppl. 5, p.1224-1229, 2008.

JORDAN, V.C. Tamoxifen: **A guide of clinicians and patients**. Huntigton, NY PRR, 1996

KOSCIELNY, S. et al. Breast cancer: relationship between the size of the primary tumour and the probability of metastatic dissemination. **British Journal Cancer**, England, v.49, n.6, p.709-715, 1984.

LUND, M. J. et al. Race and triple negative threats to breast cancer survival a population based study in Atlanta, GA. **Breast Cancer Research and Treatment**, New York, v.113, n.2, p.357-370, 2009.

MAHAMMED, R. A. et al. Improved methods of detection of lympho vascular invasion demonstrate that it is the predominant method of vascular invasion in breast cancer and has important clinical consequences. **The American Journal Surgical Pathology**, New York, v.31, n.12, p.1825-1833, 2007.

MITTRA, I.; REDKAR, A. A.; BADWE, R.A. Prognosis of breast cancer: evidence for interaction between c-erb-2 overexpression and number of involved axillary lymph nodes. **Journal Surgery Oncology**, United States, v.60, n.1, p.106-111, 1995.

MOLINO, A. et al. Ki-67 immunostain in 322 primary breast cancer: association with clinical and pathological variables. **International Journal of Cancer**, United States, v.74, n.4, p.433-437, 1997.

MORIYA, T. et al. The role of immunohistochemistry in the differential diagnosis of breast lesions. **Pathology**, England, v.41, n.1, p.68-76, 2009.

NATIONAL CANCER STATISTIC REVIEW:1973-1989. NIH Pub.No.92-2789. NCI Bethesda, MD, 1992

NEWMAN, L. A. et al. African-American ethnicity, socioeconomic status and breast cancer survival. **Cancer survival**. **Cancer**, New York, v.94, n.11, p.2844-2854, 2002.

NIXON, A. J. et al. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, United States, v.12, n.5, p. 888-894, 1994.



PAGE, D. L.; JENSEN, R. A.; SIMPSON, J. F. Routinely available indicators of prognosis in breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, New York, v.51, n. 3, p.195-208, 1998.

PAGE, D.L.; DUNPONT, W.D. Anatomic markers of human premalignancy and risk of cancer. **Cancer**, New York, v.66, suppl. 6, p.1326-1335,1990.

PAREDES, J. et al. Basal-like breast carcinomas: identification by P-cadherin, P63 and EGFR basal cytokeratins expression. **Applied Cancer Research**, São Paulo, v.26, n. 2, p. 41-55, 2006.

PARKIN, D.M. editor. Cancer incidence in five continents. **International Agency for research on cancer**. Lyon: Scientific Publications; 1997.

PARKIN, D. M. Global cancer statistics in the year 2000. **The Lancet Oncology**, England, v.2, n. 9, p.533-543, 2001.

PASCALICCHIO, J.; FRISTACHI, C.; BARACAT, F. Câncer da Mama: Fatores de risco, prognósticos e preditivos. **Revista Brasileira de Mastologia**, Rio de Janeiro, v.11, n. 2, p.71-84, 2001.

PEROU, C. M. et al. Molecular portraits of human breast tumours. **Nature**, England, v.406, n. 6797, p.747-752, 2000.

RACILA, E. et al. Detection and characterization of carcinoma cells in the blood. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, United States, v.95, n. 8, p.4589-4594,1998.

REIS-FILHO, J.S.; WESTBURY, C.; PIERGA, J.Y. The impact of expression profiling on prognostic and predictive testing in breast cancer. **Journal of Clinical Pathology**, England, v.59, n.3, p.225-231, 2006.

ROSAI, J. In: Rosai Juan Ackerman's Surgical Pathology, p 1565-1569,2011.

ROSEN, P. P. et al. Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma; analysis of 767 T1N0M0 patients with long-term follow-up. **Journal of Clinical Oncology**, United States, v. 11, n.1, p.2090-2100, 1993.

ROSS, J. S; CORDON-CARDO, C. Cell proliferation markers and cell cycle regulators in breast cancer. **Molecular oncology of breast cancer**. Jones and Barlett; Boston 2005.



RUSSO, J. S. et al. Molecular basis of pregnancy induced cancer protection. **European Journal of Cancer Prevention**, v.15, n.4, p.306-342, 2006.

SAEZ, R.A.; MCGUIRE, W.L.; CLARK, G.M. Prognostic factors in breast cancer. **Seminars in Oncology**, United States, v.5, n.1, p.102-110, 1989.

SCHWARTSMANN, G. Breast cancer in South America: challenges to improve early detection and medical management of a public health problem. **Journal of Clinical Oncology**, United States, v.19, suppl. 18, p.118-24, 2001.

SEIDMAN, J. D.; SCHNAPER, L. A.; AISNER, S. C. Relationship of the size of the invasive component of the primary breast carcinoma to axillary lymph node metastasis. **Cancer**, New York, v.75, n.1, p. 65-71, 1995.

SIMPSON, J. F.; PAGE, D. L. Prognostic value of histopathology in the breast. **Seminars in Oncology**, United States, v.19, n.3, p.254, 1992.

SIDONI, A. et al. Breast cancer in young women: clinic-pathological features and biological specificity. **Breast**, United States, v.12, n. 4, p. 247-250, 2003.

SINGLETERY, S.E. A working model for the time sequence of genetic changes in breast tumorigenesis. **Journal of the American College of Surgeons**, Chicago, v.194, n.2, p.202-216, 2002.

SLAMON, D. J. et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the Her-2/neu oncogene. **Science**, New York, v.235, n.4785, p. 177-182, 1987.

SORLIE, T. et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, United States, v. 98, n.19, p.10869-10874, 2001.

STIERER, M. et al. A prospective analysis of immunohistochemically determined hormone receptors and nuclear features as predictors of early recurrence in primary breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, Netherlands, v.36, n.1, p.11-17, 1995.

TAVASSOLI, F.A.; DEVILLE, P. editors. Pathology and genetics of tumors of the breast and female genital organs. Lyon : WHO/IARC; 2003.



TAVASSOLI, FA. Normal Development and anomalies of the breast .In :Tavassoli Pathology of the Breast, p45. 2003

TISTY, T. D.; HEIN, P.W. Know the neighbor: Stromal cells can contribute signals. **Current Opinion in Genetics & Development**, England, v.11, n. 1, p.54-59, 2001.

TOT, T. The diffuse type of lobular carcinoma of invasive the breast: morphology and prognosis. **Wirchows Arch**, Germany, v.443, n.6, p.718-724, 2003.

TURNER, N.C. et al. BRCA1 dysfunction in sporadic basal-like breast cancer. **Oncogene**, England, v.26, n. 14, p.2126-2132, 2007.

UEMURA, G.; LUCA, L. et al. Um estudo da expressão de marcadores imunohistoquímico e fatores anatomoclinicos de câncer de mama em pacientes axila negativas. **Revista Brasileira de Mastologia**, Rio de Janeiro, v.3, n. 3, p.127-32, 2003.

VALLEJOS, C. S. et al. Breast cancer classification according to immunohistochemistry markers: subtypes and association with clinicopathologic variables in a Peruvian Hospital database. **Clinical Breast Cancer**, United States, v.10, n. 4, p.294-300, 2010.

van BELLE V, et al. Qualitative assessment of the progesterone receptor and her-2 improves the nottingham prognostic index up to 5 years after breast cancer diagnosis. **Journal of Clinical Oncology**, United States, v.28, n. 27, p. 4129-4134, 2010.

van't VEER, L. J. M. et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. **Nature**, England, v.415, n.6871, p.530-536, 2002.

VENÂNCIO AFA, et al. In: Patologia Processo Gerais, p267-270, 2010

VERONESI, U. et al. Prognostic significance of number and level of axillary node metastases in breast cancer. **Breast**, United States, v.2, p.224-228, 1993

VERONESI, U. Rethinking TMA: breast cancer TNM classification for treatment decision-making and research. **Breast**, United States, v.15, n. 1, p.3-8, 2006.

VIALE, G. et al. Predicting the risk for additional axillary metastases in patients with breast carcinoma and positive sentinel lymph node biopsy. **Annals of Surgery**, United States, v.241, n.2, p.319-325, 2005.



WENGER, C.R. et al. DNA ploidy, S-phase, and steroid receptors in more than 127.000 breast cancer patients. **Breast Cancer Research and Treatment**, Netherlands, v.28, n.1, p.9-20, 1993.

WANG, S. L. et al. Triple-negative or Her-2 positive status predicts higher rates of locoregional recurrence in node-positive breast cancer patients after mastectomy. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, United States, v.80, n.4, p.1095-1101, 2010.

WOLFF, A. C. et al. America Society of Clinical Oncology/College of America Pathologists. Guideline Recommendation for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, United States, v.25, n.1, p.118-450, 2007.

YAGER, J. D.; DAVIDSON, N.E. Estrogen carcinogenesis in breast cancer. **The New England Journal of Medicine**, United States, v.354, n.3, p.270-282, 2006.

YEH, I. T.; MIES, C. Application of immunohistochemistry of breast lesions. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, United States, v.132, n.3, p.349-581, 2008.

YUAN, P. et al. Serum her-2/neu level and related factors in patients with breast cancer. **Zhonghua Zhong Liu Za Zhi**, China, v.25, n.6, p.573-574, 1991.



Apêndices

**APÊNDICE A****FICHA DE COLETA DOS DADOS DE PACIENTES DO HBL**

1. NOME -----

2. Nº DO AP(HBL)----- NªIMUNOPAT-----

3. REGISTRO -----

4. IDADE: 20 A 30 ----- 31 A 40----- 41 A 50 -----
 51 A 60----- 61 A 70----- ACIMA 70-----

5. COR DA PELE :

I () BRANCO

II () NEGRO

6. TIPO HISTOLÓGICO

DUCTAL () LOBULAR () OUTROS().....

7. ESTADIAMENTO PATOLÓGICO

E 0 () EII ()

E I () EIII ()

8. LINFONODOS

AUSÊNCIA DE METÁSTASE () MACROMETÁSTASE ()

PRESENÇA DE 1 A 3 LINFONODOS () MICROMETÁSTASE ()

PRESENÇA DE 4 A 9 LINFONODOS ()

ACIMA DE 10 LINFONODOS ()

9. IMUNOISTOQUÍMICA

RE/RP/HER-2 + () RE/RP – HER + ()

RE/RP/HER-2 - () RE + RP- HER+ ()

RE/RP+ HER-2 – () RE+ RP- HER- ()

10. MAMOGRAFIA() ULTRASONOGRAFIA()

Descrição da imagem:-----

Birads : 0 () II () IV ()

I () III () V ()

11. TIPO DE PROCEDIMENTO CIRÚRGICO:

MASTECTOMIA () QUADRENTECTOMIA ()

ONCOPLASTIA () MASTECT.+RECONST ()

LINFONODO SENTINELA SIM () NÃO ()

12. RECORRÊNCIA (METÁSTASE)

PRESENTE()..... AUSENTE ()



Anexos



ANEXO A

**DECLARAÇÃO**

Declaramos que o projeto de Pesquisa nº 18/2010 (CAAE 2411.0.000.447-10) intitulado: **“CORRELAÇÃO CLÍNICA-PATOLÓGICA EM DIFERENTES IMUNOFENÓTIPOS DE CÂNCER INVASIVO DA MAMA, QUANTO AO STATUS DOS RECEPTORES HORMONAIS E DO HER-2”**, apresentado pelo pesquisador responsável **Darley de Lima Ferreira Filho**, foi aprovado nesta data, pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos da Sociedade Pernambucana de Combate ao Câncer / Hospital de Câncer de Pernambuco.

Os autores deverão remeter cópia do artigo publicado para arquivo na Biblioteca da SPCC / HCP e terão que mencionar nas publicações a Instituição onde o trabalho foi realizado.

Recife, 21 de junho de 2010.

Atenciosamente,

Dr. Glauber Leitão
Coordenador

Comitê de Ética em Pesquisa
Sociedade Pernambucana de Combate ao Câncer
Hospital de Câncer de Pernambuco



ANEXO B

IMUNOPAT
Laboratório de Imunoistoquímica

DRA. MARIA DO CARMO CARVALHO DE ABREU E LIMA
CREMEPE 6.040
PROFESSOR ASSOCIADO, MESTRE E DOUTOR, UFPE. ESPECIALISTA EM PATOLOGIA PELO MINISTÉRIO DE EDUCAÇÃO (COMISSÃO NACIONAL DE RESIDÊNCIA MÉDICA) E PELA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA (CFM/AMB).

DRA LUCIANA GURGEL DA TRINDADE MEIRA HENRIQUES
CREMEPE 11.087
PROFESSOR ASSISTENTE, MESTRE, UFPE. ESPECIALISTA EM PATOLOGIA PELO MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO (COMISSÃO NACIONAL DE RESIDÊNCIA MÉDICA).

DRA PAULA CARVALHO DE ABREU E LIMA
CREMEPE 14.325
RESIDÊNCIA MÉDICA E FELLOWSHIP, DEPARTMENT OF PATHOLOGY, BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, HARVARD MEDICAL SCHOOL, BOSTON, EUA. ESPECIALISTA EM ANATOMIA PATOLÓGICA PELO AMERICAN BOARD OF PATHOLOGY.

Recife, 17 de maio de 2010.

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins, que autorizo o Dr. Darley de Lima Ferreira Filho a utilizar o nosso banco de dados referentes aos exames imunoistoquímicos de pacientes encaminhados pelo Hospital Barão de Lucena, para fins de sua dissertação de mestrado, mantendo todas as informações em caráter sigiloso.

Atenciosamente


Maria do Carmo Carvalho de Abreu e Lima
CRM -6040



ANEXO C





ANEXO D

Author Guidelines

Scientific papers should be presented and published in English.

On line submission, through the Journal portal (www.sisjournal.org), include Original Articles, Review Articles, Short Communications, Case Reports, Video Reports, History of Senology, Thesis Summaries, Book Reviews and Correspondence on Senology or any issue that could contribute on the different educational levels of professionals included in this field (points of view).

As SIS Journal is an electronic journal the extension limitation is not mandatory and the “good sense” of authors and reviewers will establish certain uniformity of the published articles.

As an electronic journal there will not be a colour limitation in photos and pictures (see detailed recommendations for photos and pictures).

For the publication, it is required that the submitted originals must not have been published previously and that no simultaneous publication in other journal could occur.

The content of published articles in the SIS Journal is responsibility of the authors.

Author copyrights of published articles in this Journal belong to them except the copyrights of the first publication who are property of the SIS Journal. Regarding the public access of this Journal, use of articles is free of charge in educational and non-commercial activities since the recognition of its authorship and of the publication in this Journal.

The Journal will be published each three months and accepted articles will be published individually in a collective form, containing their page numbers, after the end of the introductory role, of the editorial and of the summary, with all the articles contained in the publication Number.

THE OJS SYSTEM.

The SIS Journal is based in the software developed by the Public Knowledge Project (Open Journal System) of Columbia University. All the editorial process had been performed on-line including e-mail exchange between editors, advisories and authors. For additional information, access to the portal of Public Knowledge Project: <http://pkp.stu.ca>

You have to register on the Journal web site as “author” and send your article to that site, following all the mentioned steps. Authors can normally register and submit their articles through this system. The “author” submits the original document, reports the main data (or the indexation associated to the document) of its paper, allowing more precise on-line recuperation of the information by the lectors through the system. The “author” can also send “Supplementary Documents” to the submitted document, as additional data, research instruments, original text that could enrich the submitted document, in order to collaborate with more complete research and teaching instruments. The “author” can accompany his submission through the editorial process - or participate in the text edition or reading the first proof that has been approved for publication- or access to the system with his login and his code, that were established in the initial registration. Whenever a doubt could arouse, consult with the OJS manual (also available in the menu of the SIS E-Journal site – OJS Manual).

MANUSCRIPT PREPARATION FOR SUBMISSION.

All manuscripts must be written in single space and 6 points between paragraphs; personalized margins: superior 2cm.; inferior 1 cm.; internal 2 cm.; external 1.3 cm.; mirror margins.

All manuscripts must include:

Title

Authors Name (Surname, initials,*; Surname, initials.; etc.)

Authors Affiliations

Article Title (Sentence case)

Abstract

Keywords (At least three words separated by “;”)

Correspondence Author (Full address and e-mail for correspondence of the principal author)

FIGURES

All figures must be inserted in the place that has been selected along the manuscript.



Figures and schemes must be done in ChemDraw or IsisDraw (free access to these programs) and must be included in a way that could permit their format and engraving in jpg by the format editorial (make right click with the mouse and the option "CS Chem Draw drawing object" must appear).

Other figures (photos, graphics, etc) must have and adequate graphic quality. If scanned, must be in high resolution with extension in jpg or png.

Important: Manuscripts that contain photos or illustrations must be accompany by a letter signed by the author (scanned or delivered by e-mail) in the moment of the article submission, declaring that:

"Myself –name– declare that the figures contained in the manuscript TITLE are: of my authorship – Figures (put the number of the figures); have permission of the author or of the Journal where were published originally according to the annexed documents – Figures (put the number of the figures)

Declare, even more, that all the figures adapted from published articles make reference to the article and to the original authors.

Without these documents the manuscript could not be published by the Journal.

For instructions on how to ask authorization for publication of figures or tables of other articles go to the site of ACS in: <http://pubs.acs.org/page/copyright/permissions.html>

For these figures or illustrations, at the end of the legend must be established, as an example: (Reproduced from reference 117 with authorization. Copyright © 2006 National Academy of Sciences. USA.)

REFERENCES

For bibliographic references, use in-text citation at the end of the sentence, paragraph or citation (always inside parenthesis).

Do not use reference citation programs nor the functional system of Word.

In the item "bibliographic references" insert the LINKS for the publications or citations of pages on the web.

Submission Preparation Checklist

As part of the submission process, authors are required to check off their submission's compliance with all of the following items, and submissions may be returned to authors that do not adhere to these guidelines.

1. The submission has not been previously published, nor is it before another journal for consideration (or an explanation has been provided in Comments to the Editor).
2. The submission file is in OpenOffice, Microsoft Word, RTF, or WordPerfect document file format.
3. Where available, URLs for the references have been provided.
4. The text is single-spaced; uses a 12-point font; employs italics, rather than underlining (except with URL addresses); and all illustrations, figures, and tables are placed within the text at the appropriate points, rather than at the end.
5. The text adheres to the stylistic and bibliographic requirements outlined in the [Author Guidelines](#), which is found in About the Journal.
6. If submitting to a peer-reviewed section of the journal, the instructions in [Ensuring a Blind Review](#) have been followed.

Copyright Notice

The Copyright Notice entered below will appear in About the Journal and in each published item's metadata. While it is up to the journal to determine the nature of its copyright agreement with authors, the Public Knowledge Project recommends the use of the [CREATIVE COMMONS](#) license. To that end, it provides [SAMPLE COPYRIGHT NOTICE WORDING](#) that can be cut and pasted into the space below for journals that (a) offer open access, (b) offer delayed open access, or (c) do not offer open access.

Privacy Statement

The names and email addresses entered in this journal site will be used exclusively for the stated purposes of this journal and will not be made available for any other purpose or to any other party.