



Farid Buitrago Sánchez

Análise da expressão do HER-2 no câncer de mama e sua correlação com outros fatores prognósticos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, projeto MINTER (FMB-Unesp/ESCS-FEPECS-DF) para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Uemura

Co-orientador: Profa. Dra. Maria Cristina Ferreira Sena

**Faculdade de Medicina de Botucatu
Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”
Unesp**

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Buitrago, Farid.

Análise da expressão do HER-2 no câncer de mama e sua correlação com outros fatores prognósticos / Farid Buitrago. – Botucatu : [s.n.], 2011

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu.

Orientador: Gilberto Uemura

Co-orientador: Maria Cristina Ferreira Sena

Capes: 40101045

1. Cancerologia. 2. Mamas - Câncer. 3. Câncer - Mortalidade.

Palavras-chave: Mortalidade; Neoplasias da mama; Prognóstico; Receptor HER-2.

DEDICATORIAS

A Deus

...por estar sempre guiando meus passos, me iluminando em todos os momentos. Por ter colocado oportunidades e pessoas especiais no meu caminho. Me dado força nos momentos difíceis, consolo nos tristes e não deixando-me desistir da minha luta e ideais. Por ter me proporcionado saúde. Obrigado por ter-me abençoado...

Aos Meus Pais Alfonso (in memoriam) e Carmen

...pelo amor incondicional, dedicação e respeito com que me educaram e pelo maravilhoso exemplo de vida; agradeço pelas oportunidades que me proporcionaram, por sua luta e sacrifício para que eu me formasse uma pessoa de bem; pelo amor que continuam brindando a mim e a minha família...

A minha amada esposa Kátia

...companheira de todas as horas, por ser a pessoa maravilhosa que é; pela sua luta, coragem, inteligência, desprendimento e amor com o qual esta construindo comigo o futuro de nossos filhos; pela compreensão nos momentos de ausência e por ter iluminado cada um de meus dias desde que te conheci. Te amo! E te amare para sempre...

A meus filhos Guilherme, Giovanna e Felipe

...fruto do amor com uma mulher maravilhosa, alegram minha existência e dão um objetivo a minha vida. Sua inocência, energia e vitalidade são o combustível que alimenta meu amor por vocês. Amo vocês!...

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Gilberto Uemura**, professor e orientador, pela confiança depositada em mim, quando me aceitou como seu orientado. Por ouvir sempre com interesse e ânimo todas as questões, dúvidas e problemas que surgiram durante a execução deste estudo. Pelas horas de dedicação e paciência ao me guiarem no campo da pesquisa.

A **Prof. Dra. Maria Cristina Ferreira Sena**, co-orientadora deste trabalho, pelas horas de dedicação desde o começo da pesquisa, pela participação em muitas reuniões e em todas as etapas do projeto, por ser sempre amiga, orientadora, conselheira e paciente. Agradeço pelo seu voto de confiança e por ter acreditado em mim. Prof. Dra. Maria Cristina estou feliz...

A **Prof. Dra. Fátima Moura** coordenadora de MINTER da FEPECS pelo apoio desde o começo do projeto até sua aposentadoria.

A **Prof. Dra. Adriana Pederneiras** que deu continuidade ao trabalho da Dra. Fátima, pelo apoio e dedicação na etapa final do MINTER e na qualificação e dissertação.

Ào **Prof. Dr. Jose Carlos Peraçoli** Coordenador do Programa de Pós-Graduação da UNESP, obrigado pelos ensinamentos, suporte e dedicação na concretização do projeto MINTER.

A **Diana Fernandes e Daniel Rosendo**, Acadêmicos de Medicina da Escola Superior de Ciências da Saúde (ESCS) do Distrito Federal, por ter participado ativamente na coleta de dados e pela sua disposição em colaborar na execução do projeto.

A **Sra. Ehide**, técnica de patologia do HRS pela ajuda na pesquisa de laminas e blocos de parafina.

A **Dra. Raquel Pedrosa Ferreira Moreira**, Patologista do HRS pela colaboração na pesquisa de laminas e blocos de parafina dos casos estudados de câncer de mama.

Ao **Prof. Eduardo Freitas**, Estatístico da Unb pela ajuda na análise estatística.

Ao meu amigo e conselheiro do CRM-DF **Prof. Dr. Procópio Miguel dos Santos** pelos importantes conselhos e incentivos dados durante minha qualificação.

Ao **Prof. Dr. Adriano Bueno Tavares** pelos importantes conselhos e incentivos durante minha qualificação.

A minha amiga e colega, **Dra. Gilda Ladeira de Assis Republicano Adorno**, Médica e Mestre em mastologia do HRS pela colaboração e incentivo ao longo desta caminhada.

Aos **Professores do Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia**, meus agradecimentos sinceros por permitirem a base para a realização deste estudo.

Às **Funcionárias do ambulatório** de Mastologia do HRS.

A **meus colegas de mestrado** que me acompanharam ao longo desta jornada e dividiram comigo suas dúvidas e ensinamentos.

À **FEPECS** por seu auxílio financeiro para a aquisição dos equipamentos e materiais que foram imprescindíveis neste estudo.

Aos **funcionários da pós-graduação**, por sempre terem me lembrado de datas, prazos, com muita disposição e paciência.

Às **Pacientes**, que ao longo de minha carreira de médico confiaram em meus cuidados e em meus conhecimentos, permitindo desta forma que eu evoluísse não só como médico, mas também como ser humano.

“Àqueles que involuntariamente omitimos e que nos auxiliaram de alguma forma, a certeza de que este fato não diminui a minha gratidão.”

“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada, caminhando e semeando, no fim terás o que colher.”

Cora Coralina

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - ARTIGO DE REVISÃO

FATORES PROGNÓSTICOS EM CÂNCER DE MAMA.....	12
RESUMO.....	14
INTRODUÇÃO.....	15
CLASSIFICAÇÃO DOS FATORES PROGNÓSTICOS	16
FATORES PROGNÓSTICOS CLÁSSICOS.....	18
BIOMARCADORES CLÁSSICOS	20
HER-2	22
BIOMARCADORES EMERGENTES	22
AValiação MULTIGÊNICA	25
CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS.....	30

CAPÍTULO 2 - ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO HER-2 NO CÂNCER DE MAMA E SUA CORRELAÇÃO COM OUTROS FATORES PROGNÓSTICOS.....	38
RESUMO.....	40
ABSTRACT	41
INTRODUÇÃO.....	42
SUJEITOS E MÉTODOS	43
RESULTADOS.....	45
DISCUSSÃO	54
CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS.....	57

ANEXO	61
ANEXO 1 - PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA	62
ANEXO 2 - ESTADIAMENTO DO CÂNCER DE MAMA CLASSIFICAÇÃO TNM.....	63

TABELAS

CAPÍTULO 1 - Artigo de revisão

Tabela 1: Fatores prognósticos em câncer de mama. (Fitzgibbons et al. 2000).....	17
Tabela 2: Parâmetros multigênicos em câncer de mama	26
Tabela 3: Listagem dos 21 genes usados pelo Oncotype DX para calcular o índice de recorrência : 16 genes relacionados com câncer e 5 genes de referência	28

CAPÍTULO 2 - Artigo para publicação

Tabela 1: Razão de prevalência dos casos HER-2 positivo de acordo com a idade em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010	45
Tabela 2: Razão de prevalência dos casos HER-2 positivo de acordo com o tamanho do tumor em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010	45
Tabela 3: Razão de prevalência dos casos HER-2 positivo de acordo com o estado menstrual em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010	46
Tabela 4: Razão de prevalência dos casos HER-2 positivo de acordo com o estadiamento clínico em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010	46
Tabela 5: Razão de prevalência dos casos HER-2 positivo de acordo com o receptor de estrogênio e receptor de progesterona em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010.....	46
Tabela 6: Razão de prevalência dos casos HER-2 positivo de acordo com o Grau Histológico em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010	47
Tabela 7: Razão de prevalência dos casos HER-2 positivo de acordo com o estado linfonodal em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010	47
Tabela 8: Análise multivariada do HER-2 - Regressão de Poisson Múltipla, razão de prevalência em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010	47

FIGURAS

Figura 1: Sobrevida Livre de doença para casos HER-2 em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010.....	48
Figura 3: Sobrevida livre de doença em relação ao comprometimento axilar em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010	50
Figura 4: Sobrevida livre de doença em relação ao tamanho do tumor em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010	51
Figura 5: Sobrevida em relação ao comprometimento axilar em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010.....	52
Figura 6: Sobrevida em relação ao tamanho do tumor em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010	53

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

HER-2	- Receptor de fator de crescimento epidérmico humano 2
INCA	- Instituto Nacional do Câncer
OMS	- Organização Mundial da Saúde
IARC	- International Agency for Research on Cancer
DNA	- Ácido Desoxirribonucleico
EGFR	- Fator de Crescimento Celular Epidérmico
IH	- Imunohistoquímica
MIB1	- Mindbomb homolog 1, gene que regula a apoptose
p53	- Gene supressor tumoral p53
SCN	- Sistema de classificação de Nottingham
AJCC	- American joint Committee on Cancer
UE	- União Européia
RCPATH UK	- Colégio de Patologia do Reino Unido
RE	- Receptor de Estrogênio
PgR	- Receptor de progesterona
Ki67	- Proteína de proliferação celular
MIB-1	- Anticorpo Monoclonal anti Ki67
mRNA	- Ácido Ribonucleico mensageiro
ERβ	- Receptor de Estrogênio β
ERα	- Receptor de Estrogênio α
BCL-2	- Células B da Leucemia / Linfoma 2
FDA	- Food and Drug Administration
PR	- Pontuação de Recorrência
FEPECS	- Fundação de Ensino e Pesquisa Em Ciências da Saúde
HRS	- Hospital Regional de Sobradinho
ASCO	- Sociedade Americana de Oncologia Clínica
CAP	- Colégio Americano de Patologia
SIM	- Sistema de Informação de Mortalidade
SBR	- Scaff-Bloom-Richardson
SV	- Sobrevida Global
ILD	- Intervalo Livre de Doença

RESUMO

Introdução: A super-expressão do HER-2 tem sido associada a maior agressividade biológica do tumor e a resistência a alguns tipos de tratamento. O objetivo deste trabalho é avaliar o valor prognóstico da super-expressão do HER-2, nas pacientes portadoras de câncer de mama. **Materiais e métodos:** Estudo coorte que analisou 90 pacientes com diagnóstico de carcinoma ductal infiltrante de mama atendidas no Hospital Regional de Sobradinho no período de 1 de Janeiro de 2005 até o 31 de dezembro de 2010. A investigação da super-expressão do HER-2 foi realizada por técnica de Imunohistoquímica. As pacientes foram divididas em dois grupos: Grupo A presença de super-expressão do HER-2 (HER-2 positivo) e grupo B ausência de super-expressão (HER-2 negativo). Ambos os grupos foram comparados às características clínicas, patológicas, eventos adversos, sobrevida global e sobrevida livre de doença. **Resultados:** A prevalência da presença do HER-2 na amostra foi de 15,55%. A meia de idade no momento do diagnóstico, o tamanho do tumor, o estado menstrual, o estágio clínico e estado linfonodal não foram fatores significativos de prevalência para a presença do HER-2 positivo. O receptor de estrogênio ($p=0,0356$), receptor de progesterona ($p=0,0059$) e mostraram associação significativa com o HER-2. A análise multivariada mostrou que a prevalência do HER-2, em pacientes com câncer é 2,92 vezes maior naqueles com receptor de estrogênio negativo ($p=0,0007$) e 8,84 vezes maior naqueles com receptor de progesterona positivo ($p<0,0001$). A sobrevida livre de doença e sobrevida global é igual em pacientes com HER-2 positivo. A sobrevida livre de doença para pacientes com axila com mais de 4 linfonodos comprometidos é menor ($p=0,0009$) assim como a sobrevida global ($p<0,0001$). O tamanho tumoral também é fator adverso mostrando que tumores maiores de 2 cm tem uma menor sobrevida livre de doença ($p=0,0103$) e menor sobrevida global ($p=0,0103$). **Conclusões:** A presença da super-expressão do HER-2 está associada com a ausência do receptor de estrogênio e a presença do receptor de progesterona nesta amostra. Não encontramos associação entre a super-expressão do HER-2 e maior agressividade tumoral. O comprometimento linfonodal e o tamanho tumoral foram associados com maior mortalidade.

Palavras chaves: Mortalidade, Neoplasias da mama, Prognóstico, Receptor HER-2.

ABSTRACT

Introduction: The overexpression of HER-2 has been associated with increased aggressiveness of the tumor and resistance to some types of treatment. The objective of this study is to evaluate the prognostic value of overexpression of HER-2 in patients with breast cancer. **Materials and methods:** A cohort study that analyzed 90 patients diagnosed with infiltrating ductal carcinoma breast treated at the Regional Hospital Sobradinho the period 1 January 2005 until December 31, 2010. The investigation of the presence of overexpression of HER-2 was performed by immunohistochemical techniques. The patients were divided into two groups: Group A who had the overexpression of HER-2 and the B group who had no overexpression and compared the clinical, pathological, adverse events, overall survival and disease-free survival. **Results:** The prevalence of the presence of HER-2 in the sample was 15.55%. The age at diagnosis, tumor size, menopausal status, clinical stage and lymph node status were not significant factors prevalence for the presence of HER-2. The estrogen receptor ($p = 0.0356$), progesterone receptor ($p = 0.0059$) and showed significant association with HER-2. Multivariate analysis showed that the prevalence of HER-2 in cancer patients is 2.92 times higher in those with estrogen receptor negative ($p = 0.0007$) and 8.84 times higher in those with progesterone receptor positive ($p < 0.0001$). The disease-free survival and overall survival is equal in patients with HER-2 positive. The disease-free survival for patients with more than 4 axillary lymph nodes is lower ($p = 0.0009$) and overall survival ($p < 0.0001$). The tumor size is also an adverse factor showing that tumors larger than 2 cm have a lower disease-free survival ($p = 0.0103$) and shorter overall survival ($p = 0.0103$) **Conclusions:** The presence of over-expression of HER-2 is associated with the absence of the estrogen receptor and progesterone receptor presence. We found no association between overexpression of HER-2 and increased tumor aggressiveness. The lymph node involvement and tumor size were associated with higher mortality.

Keywords: Mortality, Breast cancer, Prognostic, HER-2 Receptor.

CAPÍTULO 1 - ARTIGO DE REVISÃO
FATORES PROGNÓSTICOS EM CÂNCER DE MAMA

Fatores prognósticos em câncer de mama

Farid Buitrago¹

Gilberto Uemura²

Maria C. F. Sena³

¹Médico, especialista em Ginecologia e Mastologia, mestrando do programa de pós-graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP).

²Professor Doutor da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP).

³Professora Doutora da Faculdade de Medicina da Escola Superior de Ciências da Saúde (ESCS) do Distrito Federal.

Correspondência:

Farid Buitrago, SQN 215 BI E apto 301 Brasília

Distrito Federal. CEP 70874-050. Telefone/Fax: 61-33406500.

Internet: faridbuitrago@gmail.com

Conflito de Interesses

Os autores não têm conflitos de interesses.

RESUMO

O curso clínico do câncer de mama e a sobrevida variam de acordo com as características próprias do tumor e do paciente. Fatores prognósticos são parâmetros possíveis de serem mensurados no momento do diagnóstico e que servem como preditor da sobrevida do paciente. A inclusão de novos fatores preditivos certamente proporciona avanços que conduzem a uma seleção ainda melhor dos pacientes principalmente para terapias adjuvantes, podendo-se mesmo chegar a uma individualização da conduta terapêutica. Além dos fatores prognósticos clássicos de câncer de mama, a descoberta de biomarcadores moleculares, como o receptor de estrogênio e receptor de progesterona têm desempenhado um papel importante na seleção de pacientes que se beneficiam de terapia endócrina por muitos anos. Mais recentemente, o receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER-2) foi validado para ser não só um factor de prognóstico, mas também um preditor de resposta a terapia alvo. O diagnóstico mais precoce do câncer de mama devido à melhoria métodos de imagem e programas de rastreamento plantea a necessidade de novos fatores e combinações de biomarcadores para quantificar o risco individual e para indicar e adicionar novas estratégias de tratamento. O marcador de proliferação Ki67 surgiu recentemente como um importante marcador, devido a várias aplicações na terapia neoadjuvante. Com a introdução de tecnologias de assinaturas multigênica, foram identificados grupos que visam superar os marcadores tradicionais. Novos estudos são necessários para estabelecer o custo-benefício substancial e, assim, justificar seu uso rotineiro para tomada de decisão no tratamento do câncer de mama.

Palavras chave: Biomarcador, Mortalidade, Neoplasia da mama, Prognóstico, Receptor.

INTRODUÇÃO

No Brasil o câncer da mama é a patologia maligna de maior mortalidade na população feminina¹. Tem o seu quadro agravado pelo fato do diagnóstico ainda ser estabelecido, na maioria das vezes, numa fase tardia da doença o que diminui as possibilidades de cura do paciente.

As causas do diagnóstico tardio são múltiplas porém este atraso no diagnóstico pode ser o reflexo da inexistência de uma política consistente de controle da doença através do diagnóstico precoce, que tem na mamografia o seu instrumento fundamental ².

A história natural do câncer de mama indica que o curso clínico da doença e a sobrevida variam de paciente para paciente. Esta variação é determinada por uma série complexa de fatores, tais como a diferença na velocidade de duplicação tumoral, o potencial de metastatização do tumor e outros mecanismos, ainda não completamente compreendidos, relacionados com a condição imunológica, hormonal e nutricional do paciente³. Fatores prognósticos são parâmetros possíveis de serem mensurados no momento do diagnóstico e que servem como preditor da sobrevida do paciente. Infelizmente no Brasil o diagnóstico tardio da doença tem contribuído negativamente para o aumento da mortalidade e a impossibilidade de realizar cada vez com maior frequência os tratamentos cirúrgicos conservadores¹.

Apesar de certos aspectos anatômicos, como o tamanho do tumor primário e as condições dos linfonodos, continuarem sendo fatores importantes na avaliação prognóstica⁴⁻⁶, uma série de características histológicas e biológicas como grau nuclear, grau histológico, dosagem de receptores hormonais e outros fatores avaliados pela imunohistoquímica são determinantes para o prognóstico da evolução da doença⁷⁻⁸.

Os principais fatores prognósticos e preditivos podem ser importantes na escolha do tratamento adequado e para determinar o risco de recorrência e de classificação de pacientes para ensaios clínicos.

METODOLOGIA

A revisão de artigos realizada adotou como critério inicial para seleção a consulta ao Index Medicus Medline (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) através de seu sistema de busca e utilizando as palavras-chave “breast câncer” e “prognostic factor”. A opção por este banco de dados decorreu do fato de ser o mesmo um das principais fontes de publicações científicas na atualidade, dado o rigor em seus critérios de avaliação de periódicos, incluindo contribuições originadas em periódicos com regularidade de edição e disponibilidade de conselhos científicos de avaliação dos artigos submetidos.

A seleção procurou alcançar os artigos em língua inglesa publicados no período compreendido entre 01 de janeiro de 2005 e 31 de dezembro de 2010. Foi realizada uma leitura cuidadosa de todos os arquivos selecionados e incluídos os artigos que atenderam aos seguintes critérios: apresentaram resultados a partir de dados primários, amostra com elevado número de pacientes estudados (variação de 200 a 30.000 casos) e qualidade dos dados apresentados refletida através da validade estatística dos resultados. Também foram incluídos artigos de relevância histórica, revisões, consensos e diretrizes.

CLASSIFICAÇÃO DOS FATORES PROGNÓSTICOS

Após décadas de estudo dos fatores preditivos e prognósticos do câncer de mama, os fatores clássicos como estadiamento, tipo e grau histológico, expressão de receptores hormonais e mais recentemente a super-expressão do HER-2, continuam a nortear as decisões terapêuticas.

O Colégio Americano de Patologistas em sua reunião de consenso classificou os fatores prognósticos em grupos (Fitzgibbons et al. 2000)⁹.

Tabela 1. Fatores prognósticos em câncer de mama. (Fitzgibbons et al. 2000)

Fatores Prognósticos em câncer de mama – Consenso do Colégio Americano de Patologistas	
Categoria 1	Estadiamento TNM
	Tipo Histológico
	Grau Histológico
	Contagem de Mitose
	Estado de Receptores Hormonais
Categoria 2	HER-2
	MIB-1
	Invasão vascular/linfática
	p53
	DNA fração S
Categoria 3	Ploidia de DNA
	Angiogênese tumoral
	Receptor para fator de crescimento epidérmico
	Fator de crescimento transformador α
	BCL-2
	pS2
	Catepsina D

Alguns fatores prognósticos têm uma dupla função, além de exercer seu papel como fator prognóstico, tem um papel muito importante como fator preditivo permitindo assim o estabelecimento de terapias específicas para o tratamento do tumor. O receptor de estrogênio e a super-expressão do HER-2 se consolidaram como alvos terapêuticos⁵⁰⁻⁵¹.

A heterogeneidade dos carcinomas de mama é decorrente do envolvimento de diferentes genes, relacionados a atividade proliferativa, diferenciação e supressão de tumores, vários deles estudados isoladamente ou em pequenos grupos, quanto à seu papel na carcinogênese como também sua implicação como fatores prognósticos. A grande quantidade de fatores envolvidos e sua heterogeneidade dificultam sua interpretação. Com o surgimento recente de tecnologias de análise de genomas concomitante de milhares de genes, foi possível classificar os tumores de mama de acordo com seu perfil gênico intrínseco, recebendo as seguintes denominações: basal, HER-2, Luminais A, B, e tipo mama normal¹⁰.

FATORES PROGNÓSTICOS CLÁSSICOS

Tamanho do tumor

Historicamente o volume do tumor é um dos fatores mais importantes, sabemos que pacientes com tumores menores de 1,0 cm têm entre 10% a 20% de possibilidade de comprometimento linfonodal¹¹⁻¹² e que pacientes com tumores menores de 1,0 cm com linfonodos negativos têm uma sobrevida livre de doença em 10 anos de 90%¹³. A avaliação correta do volume tumoral é muito importante para estadiamento das pacientes.

Variáveis a serem consideradas

Existe variação interobservador na medida do tamanho do tumor devido aos efeitos de confusão causados pela reação desmoplásica do estroma, coexistência de carcinoma ductal in situ e tumores multicentricos.¹⁴

Medição do tamanho do tumor, através de exame clínico versus avaliação dos tumores mediante exame microscópico.¹⁵ Por exemplo o carcinoma lobular pode ser maior do que visualmente aparente, enquanto aqueles com extensa reação estromal podem ser menores do que o exame macroscópico poderia sugerir.

A Inclusão de carcinoma ductal in situ na medição do tamanho do tumor pode influenciar pois é conhecido que o tamanho do componente invasivo só determina o prognóstico¹⁶.

O diagnóstico através de rastreamento mamográfico tem sido capaz de identificar tumores cada vez menores, com identificação macroscópica imprecisa. A orientação do Colegio Americano de patologistas é a de que tumores pequenos sejam preferencialmente avaliados através de seu tamanho no corte histológico.

Estado linfonodal

O estado linfonodal é o fator prognóstico mais importante no câncer de mama e tem se mostrado repetidamente como o indicador mais importante de sobrevida livre da doença e sobrevida global de mama com câncer¹²⁻¹⁵. Apenas 20% a 30% dos pacientes com nódulo negativo irá desenvolver recidiva no prazo de 10 anos, em comparação com cerca de 70% dos pacientes com envolvimento ganglionar axilar. O número absoluto de linfonodos envolvidos é também de importância prognóstica; pacientes com 4 ou mais linfonodos envolvidos têm um prognóstico pior do que aqueles com menos de 4 linfonodos envolvidos.¹⁷⁻¹⁸ A extensão extracapsular, embora de significado controverso, dever ser notificada⁹.

Macrometástases (> 0,2 cm no tamanho) têm demonstrado claramente significado prognóstico. Metástases menores (isto é, micrometástases e de células tumorais isoladas) não têm significado prognóstico quando o tratamento inicial dos linfonodos foi controlado e todas as macrometástases detectadas. O valor das series e / ou imuno-histoquímica para detectar estas pequenas metástases permanece sob investigação.

A grande maioria das pacientes encontrados com metástases linfonodais são candidatas à terapia sistêmica adjuvante. No entanto, determinar quais pacientes com linfonodos negativos devem receber terapia adjuvante é um desafio, especialmente porque a maioria são curados por excisão cirúrgica sozinha. O benefício para os pacientes que estão destinados a recidivar é mínima, e os custos e toxicidade dos tratamentos são significativas. Assim, pacientes com linfonodos negativos requerem avaliação adicional usando outros fatores prognósticos e preditivos.

Graduação histologica

A graduação histologica Scarff-Bloom-Richardson modificado por Elston-Ellis conhecida como o Sistema de Classificação de Nottingham (SCN)²⁰ é o sistema de graduação recomendado por vários organismos profissionais a nível internacional como a Organização Mundial de saúde (OMS), American Joint Committee on Câncer (AJCC), da União Europeia (UE), e do Royal Colégio de Patologistas (RCPATH UK)²¹⁻²². A relevância e prognóstico do SCN em câncer de mama foi inicialmente demonstrada em 1991²⁰ e foi validado posteriormente, em vários estudos independentes²³⁻²⁶.

Vários estudos demonstraram que pacientes com grau histológico 1 tem melhor prognóstico como foi descrito na pesquisa de Henson et al.⁵⁶ que descreveu que pacientes com tumores de grau 1 e tumor menor de 2 cm de tamanho tinham um excelente prognóstico, com 99% de sobrevida em 5 anos, mesmo quando apresentavam linfonodos axilares positivos. Estes resultados são apoiados por um estudo recente do grupo de Nottingham⁵⁷, que incluiu 2.219 casos de câncer de mama operáveis e seguimento a longo prazo.

O grau histológico mostrou ser um fator prognóstico de relevância seja independente ou em combinação com o estado linfonodal e tamanho tumoral como foi estabelecido no índice prognóstico de Nottingham²⁷ e índice prognóstico de Kalmar²³ no qual é dado uma maior ponderação ao grau histológico, Também foi incorporado em algoritmos como o Adjuvante On line²⁸ e orientações de consenso como as diretrizes de St. Gallen para determinar o uso de quimioterapia adjuvante²⁹.

Tipo Histológico

Pacientes portadoras de carcinoma ductal infiltrante apresentam normalmente um maior envolvimento linfático e um pior prognóstico que aquele verificado nos pacientes com tipos menos freqüentes de carcinoma invasivo de mama^{30,31}. Variações histológicas conferem diferentes comportamentos biológicos e agressividade tumoral. O carcinoma lobular invasivo puro com padrão de crescimento pagetóide e núcleos de baixa densidade estão associados com um prognóstico melhor do que o câncer da mama normal ou outros subtipos de carcinoma lobular invasivo³².

O carcinoma tubular combinado com histologia de baixo grau mostra prognóstico particularmente favorável³².

A Identificação de carcinomas mucinosos puros são considerados historicamente como de melhor prognóstico³². A produção de mucina extracelular abundante é insuficiente para conferir o prognóstico favorável dos carcinomas mucinosos puros³³.

O carcinoma medular é uma variante rara de câncer de mama (cerca de 0,5% dos casos) associada a um melhor prognóstico do câncer de mama invasivo, particularmente para pacientes com linfonodos negativos. No entanto, esta melhora do prognóstico só é vista quando se encontram o arsenal completo de recursos de diagnóstico e terapêuticos³⁴.

No outro extremo esta o câncer de mama inflamatório que é uma forma rara e agressiva de câncer de mama invasivo que representa 2,5% de todos os casos de câncer de mama. É caracterizado por rápida progressão, metástases locais e distantes, idade de início mais jovem, e menor sobrevida global em comparação com outros cânceres de mama. Historicamente, o carcinoma inflamatório é uma doença letal, com uma sobrevida menor que 5% além dos 5 anos, quando tratados com cirurgia ou radioterapia. Devido à sua raridade o carcinoma inflamatório é muitas vezes diagnosticado como mastites ou dermatite generalizada.

BIOMARCADORES CLÁSSICOS

Receptores de Estrogênio

A expressão do receptor de estrogênio (RE) é sem dúvida o mais importante biomarcador em câncer de mama, pois ele fornece o índice de sensibilidade ao tratamento endócrino.

Tumores RE-positivos usam o esteróide hormonal estradiol como seu principal estímulo para crescimento; RE é, portanto, o alvo direto das terapias endócrinas. Diferentes estudos confirmam que os pacientes com doença RE-negativo não têm nenhum benefício durante 5 anos tratamento adjuvante com tamoxifeno, mas algum benefício pode ser obtido no grupo de RE-negativo e tumores de mama que expressam o receptor de progesterona (PgR). O tratamento com tamoxifeno reduz a taxa anual de morte por câncer de mama em 31% na doença de RE positivo.

Embora a ausência ou a presença do RE é utilizado para obtenção de decisões sobre o tratamento, pouca atenção tem sido dada sobre o valor dos níveis de expressão quantitativa como um indicador preditivo. Evidências a partir de 1970 sugerem uma correlação direta entre os níveis de expressão dos RE e resposta à terapia endócrina³⁵. O Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group relatou que os níveis mais elevados de RE foram associados a um menor risco de recorrência quando receberam tamoxifeno adjuvante³⁶. Resultados similares foram obtidos no estudo NSABP-14 usando o ensaio de ligante e de expressão de mRNA do RE³⁷. Análises mais recentes de grandes ensaios prospectivos adjuvantes com tamoxifeno, anastrozol, isoladamente ou em combinação (ATAC) e BIG 1-98 (Letrozol versus Tamoxifeno), comparando inibidores da aromatase com o tamoxifeno não encontraram um subgrupo de pacientes RE-positivos que tenham um maior benefício dos inibidores da aromatase versus tamoxifeno³⁸⁻⁴⁰. Os ensaios revelaram, no entanto, que níveis mais altos de RE foram relacionadas à melhoria do resultado dos dois tratamentos endócrinos.

Receptor de Progesterona

A expressão do Receptor de Progesterona (PgR) é fortemente dependente do presença de RE. Tumores expressando PgR mas não o RE são incomuns e representam 1% de todos os casos de câncer de mama⁴⁰. Por esta razão, tumores com expressão PgR e falta de expressão do RE devem passar por um novo teste para avaliar o RE e eliminar a possibilidade de falso negativo. Nos raros casos de expressão apenas PgR, alguns benefícios limitados com uso de tamoxifeno foram descritos, por isto a terapia endócrina é ainda amplamente recomendada.

Há evidências de que no câncer de mama metastático a resposta ao tratamento anti-estrogênio é melhor entre pacientes com tumores que expressam tanto RE e PgR versus aqueles que apenas mostram positividade RE, mas falta a expressão PgR.

HER-2

O receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER-2) pertence à família dos receptores de crescimento. A sua expressão tem sido associada a maior agressividade biológica do tumor e a resistência a alguns tipos de tratamento⁵⁰⁻⁵¹.

O HER-2 codifica uma proteína de membrana das células tumorais que faz que estas se desenvolvam mais rápido e aumentem a sua duplicação, tornando os tumores mais agressivos⁴²⁻⁴³. Diversos estudos têm sugerido que existe uma relação entre o estado HER-2 e a resistência hormonal⁴⁴⁻⁴⁵. A presença do HER-2 está associado a maior risco de recidiva tumoral⁴⁶ e desempenha um papel fundamental na transformação oncológica⁴²⁻⁴³. O receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER-2) é amplificado em 15% a 25% dos casos de câncer de mama humano.⁴²⁻⁴⁷⁻⁴⁸. Amplificação do HER-2 ou superexpressão são reconhecidos como importantes marcadores de doença agressiva e são os alvos moleculares para terapias específicas, como trastuzumab e lapatinib⁴⁹.

A avaliação diagnóstica do estado HER-2 tem grande impacto nas decisões sobre o tratamento de pacientes com câncer de mama. Além do valor prognóstico de HER-2, ou seja, o comportamento mais agressivo dos tumores HER-2 positivo, a positividade possui um grande valor preditivo em relação aos benefícios clínicos a serem obtidos com tratamentos específicos⁴⁹.

BIOMARCADORES EMERGENTES

Ki67 e MIB-1

Ki-67 é uma proteína nuclear que não é expressada nas células em repouso (G0), mas pode ser detectada na fase G1 e M do ciclo celular. Sua utilização como um marcador de proliferação celular mostrou que o percentual de células positivas para Ki-67 pode ser usado para estratificar pacientes como de bom prognóstico ou grupos de mal prognóstico⁵²⁻⁵³. O anticorpo monoclonal MIB-1 reconhece o Ki-67, e pode ser usado em peças fixadas em formalina, ou em seções do tecido de blocos de parafina. Vários estudos têm sugerido que o MIB-1 pode ter maior valor preditivo do que anti-Ki-67⁵⁴.

A proteína Ki67 é universalmente expressa entre as células em proliferação e ausente em células em repouso o que levou à maior avaliação do Ki67 como um marcador de proliferação. Embora pouco se saiba sobre a função exata da proteína na divisão celular,

Ki67 é expressa durante as fases do ciclo celular G1, S, G2, com um pico durante o mitose e ausência na fase G0⁵⁴.

O Ki67 pode ser considerado como um fator de proliferação facilmente avaliado e reprodutível e pode ser uma alternativa ou complemento ao grau histológico como uma ferramenta de prognóstico e para a seleção de tratamento adjuvante⁵⁵. Foi demonstrado o valor prognóstico de Ki67 em pacientes com câncer de mama e linfonodos negativos, mas também revela que o impacto prognóstico é restrito a tumores RE positivos e grau histológico 2⁵⁵.

Existem muitos marcadores de proliferação, mas o Ki67 tem um preço acessível, uma técnica de fácil avaliação e reprodutível, e também tem a vantagem de que ele pode ser avaliado em blocos de parafina de material do tumor⁵⁵.

Ciclina D1

Segundo as atuais evidências disponíveis, a Ciclina D1 está solidamente estabelecida como um oncogene com um papel patogênico importante no câncer de mama e outros tumores humanos. No entanto, os mecanismos celular através dos quais a Ciclina D1 aberrante se expressa nas neoplasias humanas não são bem estabelecidos. De fato, a evidência emergente sugere que a Ciclina D1 pode atuar, predominantemente, ou pelo menos em parte, através de vias que não envolvem a sua função amplamente aceita como um regulador do ciclo celular. Embora a exploração terapêutica do papel da Ciclina D1 como modulador molecular de câncer de mama é promissor, sugere-se também que a segmentação direta do gene Ciclina D1 ou produtos de genes pode revelar-se melhor sucedidas do que as abordagens que dependem de conhecimento, sem dúvida incompleta dos mecanismos oncogênicos da Ciclina D1⁵⁸.

Ciclina D1 é abundante no mRNA e esta proteína é expressa em mais de 50% dos casos de câncer de mama, incluindo 15% em que existe uma amplificação do gene⁵⁹. Em particular, Ciclina D1 tem a capacidade de regular a proliferação das células estrogênio responsivos⁶⁰, e tem uma forte correlação com o receptor de estrogênio e receptor de progesterona⁶¹. É importante salientar que, embora haja fortes evidências que demonstram que a super-expressão de Ciclina D1 é um fator prognóstico de melhor resultado em câncer de mama invasivo, em particular entre os tumores receptores de estrogênio positivos⁶², a sua amplificação é associada com recidiva precoce e pior prognóstico⁶³. Um possível valor preditivo da Ciclina D1 em pacientes que tem tumores com receptores hormonais positivos foi mostrado recentemente, indicando que a super-expressão, bem como a amplificação é

um preditor de má resposta aos tratamentos antiestrogênio⁶⁴. A Ciclina D1 merece maior investigação neste contexto.

Ciclina E

Ciclina E age de forma semelhante a Ciclina D1 como regulador positivo da transição do ciclo celular com níveis de pico de expressão da proteína e formação de complexo enzimático com ciclina quinase dependente, na fase G1⁶⁵.

Amplificação do gene da ciclina E tem sido detectado em várias linhas celulares de câncer de mama, e até o momento não há fortes indícios de que ciclina E tem um papel importante na tumorigênese⁶⁶.

Em relação ao papel da ciclina E no ciclo celular sugere-se que níveis mais elevados podem alterar a resposta a quimioterapia e a hormonioterapia. Foi demonstrado que os níveis alterados aumentam a sensibilidade das células de câncer de mama aos efeitos da cisplatina e paclitaxel⁶⁷, mas por outro lado, facilitam a resistência a antiestrogênios⁶⁸. Estes resultados devem ser validados em estudos prospectivos.

ER β

Descoberto pela primeira vez em 1996, o Receptor de estrogênio β (ER β) é frequentemente expresso em células de diferentes órgãos. Embora os dois subtipos do receptor de estrogênio são codificados por genes diferentes, localizadas em dois cromossomos diferentes, eles têm muito em comum estruturalmente. O ER β tem a capacidade de mediar efeitos, as vezes opostos ao Receptor de Estrogênio α (ER α) devido a diferentes regiões de ligação⁶⁹.

Um papel de ER β na tumorigênese tem sido sugerido devido à sua significativa regulação do câncer de mama em comparação com o tecido mamário normal, em contraste com ER α ⁷⁰. A forte regulação de c-myc, um regulador do ciclo celular e transcrição, pode ser observado na presença de ER β , o que pode explicar os efeitos antiproliferativos do ER β ⁷¹.

Com a disponibilidade de anticorpos específicos foi possível relacionar os níveis de proteína ER β com bom prognóstico, aumento da sobrevida livre de doença e resposta ao tamoxifeno⁷⁰. Além disso, a expressão ER β tem sido associada à expressão de ER α e Receptor de progesterona, e em casos câncer de mama com ER α negativo o ER β é expresso em cerca de 50% dos casos⁷². Neste cenário, ER β correlaciona positivamente com o marcador de proliferação Ki67. No entanto, mais estudos são necessários antes ER β possa ser usado como uma ferramenta de diagnóstico e possível alvo da terapia.

BCL-2

Foi demonstrado que o gene do BCL-2 (células B da leucemia / linfoma 2) esta associado com o desenvolvimento do câncer de mama. A proteína codificada pelo gene BCL-2 também conhecida com bcl-2 é um membro da família bcl que regulam apoptose. Seu potencial carcinogénico foi demonstrada em modelos animais.

A presença do bcl-2 é um marcador de bom prognóstico e indica uma boa resposta ao tamoxifeno. Nos estudos de Elledge et al⁷³ a presença de bcl-2 esta correlacionada com a presença de receptores de estrogênio e com uma maior sobrevida livre de doença e também com uma melhor resposta ao tratamento com tamoxifeno.

Um estudo realizado por Hellemans et al⁷⁵ não mostrou significado prognóstico para expressão do bcl-2 nos pacientes com linfonodos negativos, mas o bcl-2 negativo foi correlacionado com menor sobrevida livre de doença e menor sobrevida global entre os pacientes com linfonodos positivos.

AValiação Multigênica

A busca por fatores prognósticos mais adequados tem se direcionado ao campo da genética. Perfil de expressão gênica dos tumores permite a medição de milhares de transcrições de mRNA (Ácido Ribonucleico mensageiro) em um único experimento utilizando microarrays de DNA (Ácido desoxirribonucleico). A recente declaração de consenso de St Gallen fornece a visão que o uso de um ensaio validado multigênico de perfil é justificado como um adjuvante de alta qualidade de fenotipagem de câncer de mama em casos em que a indicação para quimioterapia adjuvante permanece incerto⁷⁶.

No câncer de mama, os resultados dos estudos de perfis multigênico indicaram a existência de um número de doenças neoplásicas molecularmente distintas, que parecem se originar de diferentes tipos celulares. Perou et al. (2000)¹⁰ foram os primeiros a distinguir quatro classes moleculares de câncer de mama com a sua classificação com base no receptor do hormônio e o estado do HER-2: câncer luminal, que são quase todos RE positivo, expressam citoqueratina 8 e 18 típica da glândula mamária, e são divididas em luminal A, que são na sua maioria grau histológico baixo, e luminal B, que tendem a ser de alto grau com um pior prognóstico; cânceres HER-2-positivo, que não expressam receptores hormonais e são de mau prognóstico; cânceres basallike de mama, que se apresentam com RE,

PgR, e HER2-negativo (triplo negativos) tumores com um prognóstico pobre e expressão das citoqueratinas da camada basal epitelial (CK 5 / 6, CK 17)⁷⁷.

Vários grupos compreenderam o desafio de desenvolver testes com base no perfil genômico com a expectativa de que isto poderia prever melhor o resultado clínico que os marcadores clínicos e patológicos (Tabela 2). A assinatura de 70 genes chamada MammaPrint foi desenvolvida utilizando amostras congeladas de um grupo de 78 pacientes. Estes foram selecionados, retrospectivamente, com linfonodo negativo, câncer de mama com menos de 5 cm, sem quimioterapia adjuvante e menores de 55 anos⁷⁸. O estudo dos 70 genes permitiu classificar os tumores com precisão em tumores de mal ou bom prognóstico, dados que foram significativamente correlacionados com os resultados clínicos (metástases a distancia no prazo de 5 anos). A assinatura foi validada retrospectivamente em um conjunto de 295 pacientes, incluindo ambos os linfonodos positivos e negativo.

Tabela 2: Parâmetros multigênicos em câncer de mama

Assinatura Gênica	Número de genes estudados	Tipo de Tecido	Aplicação	Trials
MammaPrint	70	Fresco congelado	Prognóstico para recorrência dentro de cinco anos em todas as pacientes linfonodo-negativo e linfonodo-positivo	MINDACT
Oncotype DX	21	FFPE	Risco residual de MD em pacientes RE-positivos tratadas com tamoxifeno ou IA e preditiva de benefício de quimioterapia nas pacientes com linfonodos-negativos e RE-positivos.	TAILORx
Genomic-grade index	97	Originalmente Fresco congelado, Validado por FFPE	Previsão de prognóstico de recaída no tratamento endócrino dos casos RE-positivos	
Molecular grade index	5	FFPE	Prevê mau resultado, apesar da terapêutica endócrina em casos de câncer de mama com RE-positivos	
Rotterdam signature	76	Fresco congelado	Prognóstico para desenvolvimento de MD dentro de cinco anos	

FFPE, formalin-fixed, paraffin-embedded; RE, receptor de estrogênio; MD, Metástase a distancia; IA, inibidor da aromatase.

O FDA (Food and Drug administration) aprovou o MammaPrint para uso clínico como um teste prognóstico para as mulheres com idade de 61 anos ou menos com qualquer RE-positivo ou RE-negativos e linfonodos negativos, mais um estudo prospectivo para validação e determinar sua utilidade clínica está a recrutando pacientes. Este estudo em doentes com linfonodos negativos pode evitar quimioterapia adjuvante (MINDACT). Espera-se que se incluam 6.000 pacientes com câncer de mama que terão uma avaliação de risco utilizando fatores clinicopatológicos (Adjuvant! Online) e do perfil dos 70 genes.

Pacientes receberão quimioterapia adjuvante se ambos os testes predizerem alto risco e se ambos indicam um baixo risco não será prescrito nenhuma quimioterapia. Em caso de discordância de resultados, os pacientes serão randomizados para seguir um ou outro tratamento⁷⁹.

A assinatura Oncotype DX foi projetada para prever melhor o risco de recorrência distante em pacientes com RE-positivo câncer de mama precoce recebendo tamoxifeno. Este teste é baseado na medição em tempo real da expressão de 16 genes com significado conhecido na câncer de mama e de 5 genes de referência (Tabela 3). A pontuação de recorrência (PR) é calculado por um algoritmo matemático, que foi desenvolvido e criado utilizando amostras dos braços do tamoxifeno NSABPB20 e B-14⁸⁰. A PR é uma medição contínua de risco, mas geralmente tem sido usada para identificar três grupos com um baixo, intermediário, e alto risco de recorrência à distância, que foram associados a 10%, 10-30%, e >30% de taxas de recorrência em 10 anos entre as pacientes tratados com tamoxifeno. A PR tem sido descrita para ser preditivo de sobrevida global e metástase a distância independente de idade e do tamanho do tumor.

Tabela 3: Listagem dos 21 genes usados pelo Oncotype DX para calcular o índice de recorrência : 16 genes relacionados com câncer e 5 genes de referência

Factor	Gene
Proliferação	Ki67 STK15 Survivin Cyclin B1 MYBL2
Estrogênio	ER PgR BCL2 SCUBE2
Invasão	Stromelysin 3 Cathepsin L2
HER-2	GRB7 HER2
Outros	GSTM1 CD68 BAG1
Referência	b-Actin GADPH RPLP0 GUS TFRC

CONCLUSÃO

O fato de que o câncer de mama não é um câncer homogêneo, mas consiste em vários subtipos diferentes com diferentes perfis moleculares, comportamento biológico, e vários perfis de risco representa um desafio para o manejo clínico.

Fatores prognósticos e preditivos constituem ferramentas importantes para a individualização da terapia do câncer de mama objetivando fornecer tratamentos eficientes a pacientes com excelente perfil de baixo risco evitando assim indesejáveis efeitos colaterais e muitas vezes tratamentos excessivos.

Os marcadores clinicopatológicos estabelecidos, e especialmente o RE e o HER-2, têm claramente definidos sua aplicabilidade clínica, porém deficiências nas metodologias de avaliação podem ainda afetar a sua utilização. Ferramentas adicionais são necessárias para facilitar a tomada de decisões clínicas por este motivo os avanços mais recentes apontam na direção de estabelecer o perfil gênico dos tumores classificando as pacientes de acordo com o risco que tem para o desenvolvimento de metástase a distância ou de acordo com a resistência a terapêutica atualmente disponível.

Ainda falta muito para conhecer sobre a função específica dos marcadores biológicos presentes nos casos de cancer de mama entretanto o conhecimento adquirido nos últimos anos será de grande valor para criar terapias alvo específicas que possam individualizar o tratamento do câncer de mama.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional de Câncer (INCA), Ministério da Saúde. Estimativa 2010, incidência do Câncer no Brasil. INCA 2010
2. Kock HA, Peixoto JE, Neves ALE. Análise da infra-estrutura para a mamografia. *Radiol Bras* 2000;33:23-9.
3. Clark GM. Prognostic and predictive factors. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Hellman S, editors. *Diseases of breast*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p.461-70.
4. Andreopoulou E, Hortobagyi GN. Prognostic Factors in Metastatic Breast Câncer: Successes and Challenges Toward Individualized Therapy. *J Clin. Oncol.* 2008;26:3660-2.
5. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Thun, MJ. Câncer statistics, 2009. *Câncer J Clin.* 2009;59:225-49.
6. Masood S. Prognostic/predictive factors in breast câncer. *Clin Lab Med.* 2005;25:809-25.
7. Jensen EV, Jacobson HI. Biological activities of steroids in relation to câncer. In Pincus G, Vollmer EP (eds): *Fate of Steroidal Estrogens in Target Tissues*. New York: Academic Press 1962; 161-74
8. Thorpe SM. Estrogen and progesterone receptor determinations in breast câncer. Technology, biology and clinical significance. *Acta Oncol* 1988; 27: 1-19.
9. Fitzgibbons et al. Prognostic Factors in Breast Câncer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*—Vol 124, July 2000
10. Perou CM, et al. Molecular Portraits of Human Breast Tumor. *Nature* 2000;406 (6797):747-752
11. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node estado, and survival in 24,740 breast câncer cases. *Câncer.* 1989;63:181-187.
12. Leitner SP, Swern AS, Weinberger D, et al. Predictors of recurrence for patients with small (one centimeter or less) localized breast câncer (T1a,b N0 M0). *Câncer.* 1995;76:2266-2274.

13. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW, Norton L. Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma: analysis of 767 T1N0M0/T2N0M0 patients with long-term follow up. *J Clin Oncol*. 1993;11:2090–2100.
14. Sloane JP. National coordinating group for breast screening pathology: consistency of histopathological reporting of breast lesions detected by screening. *Eur J Câncer*. 1994;30A:1414–1419.
15. Cady B. Use of primary breast carcinoma characteristics to predict lymph node metastases. *Câncer*. 1997;79:1856–1861.
16. Seidman JD, Schnaper LA, Aisner SC. Relationship of the size of the invasive component of the primary breast carcinoma to axillary lymph node metastasis. *Câncer*. 1995;75:65–71.
17. Fisher ER, Anderson S, Redmond C, Fisher B. Pathologic findings from the
18. National Surgical Adjuvant Breast Project Protocol B-06: 10-year pathologic and clinical prognostic discriminants. *Câncer*. 1993;71:2507–2514.
19. Veronesi U, Galimberti V, Zurrada S, et al. Prognostic significance of number
20. and level of axillary nodal metastases in breast câncer. *Breast*. 1993;2:224–228.
21. Rakha EA, et al. Breast câncer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Câncer Res*. 2010;12(4):207.
22. Elston CW, Ellis IO: Pathological prognostic factors in breast câncer I. The value of histological grade in breast câncer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991, 19:403-410.
23. Pathology Reporting of Breast Disease: A Joint Document Incorporating the Third Edition of the NHS Breast Screening Programme's Guidelines for pathology Reporting in Breast Câncer Screening and the Second Edition of The Royal College of Pathologists' Minimum Dataset for Breast Câncer Histopathology. Sheffield; NHS Câncer Screening Programmes and The Royal College of Pathologists; January 2005.

24. Tavassoli FA, Devilee P: World Health Organization classification of tumours. In *Pathology and Genetics Tumours of the Breast and Female Genital Organs*. Lyon: IARC Press; 2003:19-23.
25. Sundquist M, Thorstenson S, Brudin L, Nordenskjold B: Applying the Nottingham Prognostic Index to a Swedish breast cancer population. South East Swedish Breast Cancer Study Group. *Breast Cancer Res Treat* 1999, 53:1-8.
26. Saimura M, Fukutomi T, Tsuda H, Sato H, Miyamoto K, Akashi-Tanaka S, Nanasawa T: Prognosis of a series of 763 consecutive node-negative invasive breast cancer patients without adjuvant therapy: analysis of clinicopathological prognostic factor. *J Surg Oncol* 1999, 71:101-105.
27. Lundin J, Lundin M, Holli K, Kataja V, Elomaa L, Pylkkanen L, Turpeenniemi-Hujanen T, Joensuu H: Omission of histologic grading from clinical decision making may result in overuse of adjuvant therapies in breast cancer: results from a nationwide study. *J Clin Oncol* 2001, 19:28-36.
28. Simpson JF, Gray R, Dressler LG, Cobau CD, Falkson CI, Gilchrist KW, Pandya KJ, Page DL, Robert NJ: Prognostic value of histologic grade and proliferative activity in axillary node-positive breast cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group Companion Study, EST 4189. *J Clin Oncol* 2000, 18:2059-2069.
29. Galea MH, Blamey RW, Elston CE, Ellis IO: The Nottingham Prognostic Index in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1992, 22:207-219.
30. Mook S, Schmidt MK, Rutgers EJ, van de Velde AO, Visser O, Rutgers SM, Armstrong N, van't Veer LJ, Ravdin PM: Calibration and discriminatory accuracy of prognosis calculation for breast cancer with the online Adjuvant! program: a hospital-based retrospective cohort study. *Lancet Oncol* 2009, 10:1070-1076.
31. Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann 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, 20:1319-1329.
32. Adair F, Berg J, Joubert L, Robbins GF. Long term follow-up of breast cancer patients: the 30 year report. *Cancer* 1974;33:1145-50.

33. Ketterhagen JP, Quakenbush SR, Haushalter RA. Tumor histology as a prognostic determinant in carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet* 1984;158:120-3.
34. Diab SG, Clark GM, Osborne CK, Libby A, Allred DC, Elledge RM. Tumor characteristics and clinical outcome of tubular and mucinous breast carcinomas. *J Clin Oncol*.1999;17:1442-1448.
35. Page DL, Jensen RA, Simpson JF. Routinely available indicators of prognosis in breast câncer. *Br Câncer Res Treat*. 1998;51:195–208.
36. Wong SL, Chao C, Edwards MJ, et al. Frequency of sentinel lymph node metastases in patients with favorable breast câncer histologic subtypes. *Am J Surg*. 2002;184:492-498.
37. Byar DP, Sears ME & McGuire WL Relationship between estrogen receptor values and clinical data in predicting the response to endocrine therapy for patients with advanced breast câncer. *European Journal of Câncer* 1979; 15 299–310.
38. Anonymous Tamoxifen for early breast câncer: an overview of the randomised trials. Early Breast Câncer Trialists' Collaborative Group. *Lancet* 1998; 351 1451–1467.
39. Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, Baehner FL, Walker MG, Watson D, Park T et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifentreated, node-negative breast câncer. *New England Journal of Medicine* 2004; 351 2817–2826.
40. Howell A, Cuzick J, Baum M, Buzdar A, Dowsett M, Forbes JF, Hochtin-Boes G, Houghton J, Locker GY, Tobias JS et al. Results of the ATAC (arimidex, tamoxifen, alone or in combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast câncer. *Lancet* 2005; 365 60–62.
41. Dowsett M, Allred C, Knox J, Quinn E, Salter J, Wale C, Cuzick J, Houghton J, Williams N, Mallon E et al. Relationship between quantitative estrogen and progesterone receptor expression and human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2) estado with recurrence in the arimidex, tamoxifen, alone or in combination trial. *Journal of Clinical Oncology* 2008; 26 1059–1065.
42. Viale G, Regan MM, Maiorano E, Mastropasqua MG, Dell'Orto P, Rasmussen BB, Raffoul J, Neven P, Orosz Z, Braye S et al. Prognostic and predictive value of centrally reviewed expression of estrogen and progesterone receptors in a randomized trial

- comparing letrozole and tamoxifen adjuvant therapy for postmenopausal early breast cancer: BIG 1-98. *Journal of Clinical Oncology* 2007; 25 3846–3852.
43. Elledge RM, Green S, Pugh R, Allred DC, Clark GM, Hill J, Ravdin P, Martino S & Osborne CK Estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PgR), by ligandbinding assay compared with ER, PgR and pS2, by immuno-histochemistry in predicting response to tamoxifen in metastatic breast cancer: a Southwest Oncology Group Study. *International Journal of Cancer* 2000; 89 111–117
 44. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of HER-2/neu oncogene. *Science* 1987; 235: 177-182.
 45. Di Fiore PP, Pierce JH, Fleming TP, Hazan R, Ullrich A, King CR, Schlessinger J, Aaronson SA. Overexpression of the human EGF receptor confers an EGF-dependent transformed phenotype to NIH 3T3 cells. *Cell* 1987; 51:1063-1070
 46. Benz CC, Scott GJ, Sarup JC et al: Estrogen-dependent tamoxifen-resistant Tumorigenic growth of MCF-7 cells transfected with HER-2/neu. *Breast Cancer Res Treat* 1992; 24:85-95
 47. Fernandez MJ, Farina GJ, Arangoncillo BP: Immunohistochemical expression of p-53 and c-ER β -2 in breast carcinoma: relation with epidemiologic factors, histologic features and prognosis. *Gen & Diagnostic Pathol* 1997; 142: 289-96
 48. Press MF, Bernstein L, Thomas PA et al. HER-2/neu gene amplification characterized by fluorescence in situ hybridization: poor prognosis in node-negative breast carcinomas. *J Clin Oncol* 1997;15[8]:2894-2904.
 49. Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC, Chen E, Gray A, McGrath J, Seeburg PH, Libermann TA, Schlessinger J, Francke U. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985; 230:1132-1139
 50. Konecny G, Pauletti G, Pegram M, Untch M, Dandekar S, Aguilar Z, Wilson C, Rong HM, Bauerfeind I, Felber M, Wang H-J, Beryt M, Seshadri R, Slamon DJ. Quantitative association between HER-2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor positive primary breast cancer. *J Natl Cancer inst* 2003; 95: 142-153.

51. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B et al. Trastuzumabe after adjuvant chemotherapy in HER-2-positive breast câncer. *N Engl J Med* 2005;353:1659-1672.
52. Ferrero-Pous M, Hacene K, Bouchet C et al. Relationship between c-ER β B-2 and other tumor characteristics in breast câncer prognosis. *Clin. Câncer Res* 2000; 6:4745–4754.
53. Toikkanen S, Helin H, Isola J Joensuu H. Prognostic significance of HER-2 oncoprotein expression in breast câncer: a 30-year follow-up. *J Clin Oncol* 1992;10: 1044–1048.
54. Brown RW, Allred DC, Clark GM, Osborne CK, Hilsenbeck SG. Prognostic value of Ki67 compared to S phase fraction in axillary node-negative breast câncer. *Clin Câncer Res.* 1996;2:585–592.
55. Molino A, Micciolo R, Turazza M, et al. Ki-67 immunostaining in 322 primary breast câncers: association with clinical and pathological variables and prognosis. *Int J Câncer.* 1997;74:433–437.
56. Connor AJM, Pinder SE, Elston CW, et al. Intratumoral heterogeneity of proliferation in invasive breast carcinoma evaluated with MIB-1 antibody. *Breast.* 1997;6:171–176.
57. Marie K., Par-Ola B., Dorthe G., Kristina L., Per M., Marten F., for the South Sweden Breast Câncer Group. The prognostic value of Ki67 is dependent on estrogen receptor estado and histological grade in premenopausal patients with node-negative breast câncer. *Modern Pathology.* 2010; 23, 251–259
58. Henson DE, Ries L, Freedman LS, Carriaga M: Relationship among outcome, stage of disease, and histologic grade for 22,616 cases of breast câncer. The basis for a prognostic index. *Câncer* 1991, 68:2142-2149.
59. Rakha EA, El-Sayed ME, Lee AH, Elston CW, Grainge MJ, Hodi Z, Blamey RW, Ellis IO: Prognostic significance of nottingham histologic grade in invasive breast carcinoma. *J Clin Oncol* 2008, 26:3153-3158.
60. Arnold A, Papanikolaou A. Cyclin D1 in breast câncer pathogenesis. *J Clin Oncol.* 2005 Jun 20;23(18):4215-24.
61. Ormandy CJ, Musgrove EA, Hui R, Daly RJ & Sutherland RL 2003 Cyclin D1, EMS1 and 11q13 amplification in breast câncer. *Breast Câncer Research and Treatment*, 78. 323–335.

62. Zwijssen RM, Wientjens E, Klompmaker R, van der Sman J, Bernards R & Michalides RJ 1997 CDK-independent activation of estrogen receptor by cyclin D1. *Cell* 88 405–415.
63. Jares P, Rey MJ, Fernández PL, Campo E, Nadal A, Muñoz M, Mallofré C, Muntané J, Nayach I, Estapé J et al. 1997. Cyclin D1 and retinoblastoma gene expression in human breast carcinoma: correlation with tumour proliferation and oestrogen receptor status. *Journal of Pathology* 182 160–166.
64. Gillett C, Smith P, Gregory W, Richards M, Millis R, Peters G & Barnes D 1996 Cyclin D1 and prognosis in human breast cancer. *International Journal of Cancer* 69 92–99.
65. Bièche I, Olivi M, Nogue`s C, Vidaud M & Lidereau R 2002 Prognostic value of CCND1 gene status in sporadic breast tumours, as determined by real-time quantitative PCR assays. *British Journal of Cancer* 86 580–586.
66. Jirstrom K, Stendahl M, Ryde`n L, Kronblad A, Bendahl PO, Sta`l O & Landberg G 2005 Adverse effect of adjuvant tamoxifen in premenopausal breast cancer with cyclin D1 gene amplification. *Cancer Research* 65 8009–8016.
67. Koff A, Giordano A, Desai D, Yamashita K, Harper JW, Elledge S, Nishimoto T, Morgan DO, Franza BR & Roberts JM 1992 Formation and activation of a cyclin E–cdk2 complex during the G1 phase of the human cell cycle. *Science* 257 1689–1694.
68. Bortner DM & Rosenberg MP 1997 Induction of mammary gland hyperplasia and carcinomas in transgenic mice expressing human cyclin E. *Molecular and Cellular Biology* 17 453–459.
69. Smith ML & Seo YR 2000 Sensitivity of cyclin E-overexpressing cells to cisplatin/taxol combinations. *Anticancer Research* 20 2537–2539.
70. Akli S & Keyomarsi K 2004 Low-molecular-weight cyclin E: the missing link between biology and clinical outcome. *Breast Cancer Research* 6 188–191.
71. Liu Y, Gao H, Marstrand TT, Stro`m A, Valen E, Sandelin A, Gustafsson JA & Dahlman-Wright K 2008 The genome landscape of ER α - and ER β -binding DNA regions. *PNAS* 105 2604–2609.
72. Skliris GP, Munot K, Bell SM, Carder PJ, Lane S, Horgan K, Lansdown MR, Parkes AT, Hanby AM, Markham AF et al. 2003 Reduced expression of oestrogen receptor beta in

invasive breast cancer and its re-expression using DNA methyl transferase inhibitors in a cell line model. *Journal of Pathology* 201 213–220.

73. Strom A, Hartman J, Foster JS, Kietz S, Wimalasena J & Gustafsson JA 2004 Estrogen receptor beta inhibits 17beta-estradiol-stimulated proliferation of the breast cancer cell line T47D. *PNAS* 101 1566–1571.
74. Skliris GP, Leygue E, Curtis-Snell L, Watson PH & Murphy LC 2006 Expression of oestrogen receptor-beta in oestrogen receptor-alpha negative human breast tumours. *British Journal of Cancer* 95 616–626.
75. Elledge RM, Green S, Howes L, et al. bcl-2, p53, and response to tamoxifen in estrogen receptor-positive metastatic breast cancer: a Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol.* 1997;15:1916–1922.
76. Hellemans P, van Dam PA, Weyler J, et al. Prognostic value of bcl-2 expression in invasive breast cancer. *Br J Cancer.* 1995;72:354–360.
77. Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B & Senn H-J 2009 Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Annals of Oncology* 20 1319–1329.
78. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS et al. 2001 Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *PNAS* 98 10869–10874.
79. van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, Peterse HL, van der Kooy K, Marton MJ, Witteveen AT et al. 2002 Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 415 530–536.
80. Bogaerts J, Cardoso F, Buyse M, Braga S, Loi S, Harrison JA, Bines J, Mook S, Decker N, Ravdin P et al. 2006 Gene signature evaluation as a prognostic tool: challenges in the design of the MINDACT trial. *Nature Clinical Practice. Oncology* 3 540–551.
81. Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, Baehner FL, Walker MG, Watson D, Park T et al. 2004 A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen treated, node-negative breast cancer. *New England Journal of Medicine* 351 2817–2826.

CAPÍTULO 2 - ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO
ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO HER-2 NO CÂNCER DE MAMA E SUA
CORRELAÇÃO COM OUTROS FATORES PROGNÓSTICOS

**Análise da expressão do HER-2 no câncer de mama
e sua correlação com outros fatores prognósticos**

**Analysis of expression of HER-2 in breast cancer and its
correlation with other prognostic factors**

Farid Buitrago¹

Gilberto Uemura²

Maria C. F. Sena³

Trabalho desenvolvido no Hospital Regional de Sobradinho do Distrito Federal

¹Médico, especialista em Ginecologia e Mastologia, mestrando do programa de pós-graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP).

²Professor Doutor da Faculdade de Medicina de Botucatu - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP).

³Professora Doutora da Faculdade de Medicina da Escola Superior de Ciências da Saúde (ESCS) do Distrito Federal.

Este projeto foi desenvolvido com o apoio financeiro da Escola Superior de Ciências da Saúde, mantida pela FEPECS.

Correspondência:

Farid Buitrago, SQN 215 Bl E apto 301 Brasília

Distrito Federal. CEP 70874-050. Telefone/Fax: 61-33406500.

Internet: faridbuitrago@gmail.com

Conflito de Interesses

Os autores não têm conflitos de interesses.

RESUMO

Introdução: A super-expressão do HER-2 tem sido associada a maior agressividade biológica do tumor e a resistência a alguns tipos de tratamento. O objetivo deste trabalho é avaliar o valor prognóstico da super-expressão do HER-2, nas pacientes portadoras de câncer de mama.

Materiais e métodos: Estudo coorte que analisou 90 pacientes com diagnóstico de carcinoma ductal infiltrante de mama atendidas no Hospital Regional de Sobradinho no período de 1 de Janeiro de 2005 até o 31 de dezembro de 2010. A investigação da super-expressão do HER-2 foi realizada por técnica de Imunohistoquímica. As pacientes foram divididas em dois grupos: Grupo A presença de super-expressão do HER-2 (HER-2 positivo) e grupo B ausência de super-expressão (HER-2 negativo). Ambos os grupos foram comparados às características clínicas, patológicas, eventos adversos, sobrevida global e sobrevida livre de doença.

Resultados: A prevalência da presença do HER-2 na amostra foi de 15,55%. A meia de idade no momento do diagnóstico, o tamanho do tumor, o estado menstrual, o estágio clínico e estado linfonodal não foram fatores significativos de prevalência para a presença do HER-2 positivo. O receptor de estrogênio ($p=0,0356$), receptor de progesterona ($p=0,0059$) e mostraram associação significativa com o HER-2. A análise multivariada mostrou que a prevalência do HER-2, em pacientes com câncer é 2,92 vezes maior naqueles com receptor de estrogênio negativo ($p=0,0007$) e 8,84 vezes maior naqueles com receptor de progesterona positivo ($p<0,0001$). A sobrevida livre de doença e sobrevida global é igual em pacientes com HER-2 positivo. A sobrevida livre de doença para pacientes com axila com mais de 4 linfonodos comprometidos é menor ($p=0,0009$) assim como a sobrevida global ($p<0,0001$). O tamanho tumoral também é fator adverso mostrando que tumores maiores de 2 cm tem uma menor sobrevida livre de doença ($p=0,0103$) e menor sobrevida global ($p=0,0103$).

Conclusões: A presença da super-expressão do HER-2 está associada com a ausência do receptor de estrogênio e a presença do receptor de progesterona nesta amostra. Não encontramos associação entre a super-expressão do HER-2 e maior agressividade tumoral. O comprometimento linfonodal e o tamanho tumoral foram associados com maior mortalidade.

Palavras chaves: Mortalidade, Neoplasias da mama, Prognóstico, Receptor HER-2.

ABSTRACT

Introduction: The overexpression of HER-2 has been associated with increased aggressiveness of the tumor and resistance to some types of treatment. The objective of this study is to evaluate the prognostic value of overexpression of HER-2 in patients with breast cancer.

Materials and methods: A cohort study that analyzed 90 patients diagnosed with infiltrating ductal carcinoma breast treated at the Regional Hospital Sobradinho the period 1 January 2005 until December 31, 2010. The investigation of the presence of overexpression of HER-2 was performed by immunohistochemical techniques. The patients were divided into two groups: Group A who had the overexpression of HER-2 and the B group who had no overexpression and compared the clinical, pathological, adverse events, overall survival and disease-free survival.

Results: The prevalence of the presence of HER-2 in the sample was 15.55%. The age at diagnosis, tumor size, menopausal status, clinical stage and lymph node status were not significant factors prevalence for the presence of HER-2. The estrogen receptor ($p = 0.0356$), progesterone receptor ($p = 0.0059$) and showed significant association with HER-2. Multivariate analysis showed that the prevalence of HER-2 in cancer patients is 2.92 times higher in those with estrogen receptor negative ($p = 0.0007$) and 8.84 times higher in those with progesterone receptor positive ($p < 0.0001$). The disease-free survival and overall survival is equal in patients with HER-2 positive. The disease-free survival for patients with more than 4 axillary lymph nodes is lower ($p = 0.0009$) and overall survival ($p < 0.0001$). The tumor size is also an adverse factor showing that tumors larger than 2 cm have a lower disease-free survival ($p = 0.0103$) and shorter overall survival ($p = 0.0103$).

Conclusions: The presence of over-expression of HER-2 is associated with the absence of the estrogen receptor and progesterone receptor presence. We found no association between overexpression of HER-2 and increased tumor aggressiveness. The lymph node involvement and tumor size were associated with higher mortality.

Keywords: Mortality, Breast cancer, Prognostic, HER-2 Receptor.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde¹ estima que, por ano, ocorram mais de 1.050.000 casos novos de câncer de mama em todo o mundo, o que o torna o câncer de mama um dos mais incidentes entre as mulheres².

O comportamento e a história natural do câncer de mama é variável e heterogêneo, levando aos pesquisadores a se perguntar: porque pacientes com variáveis demográficas, clínicas e histológicas muito parecidas, tem comportamentos diferentes? Na busca de uma resposta a este questionamento as pesquisas tem se direcionado na procura por fatores prognósticos que possam caracterizar cada tumor e conferir a cada um deles um grau variável de agressividade. O comportamento desta doença está intrinsecamente relacionada com a agressividade do tumor e a resposta do hospedeiro o que explica em parte porque pacientes com estágio clínico igual têm taxas de sobrevida livre de doença e de mortalidade diferentes³.

Fator prognóstico é uma característica clínica ou biológica que avaliada no momento do diagnóstico, indica resultado desfavorável em termos de sobrevida e intervalo livre de doença. Os fatores preditivos são características que permitem antecipar a resposta clínica a um tipo de terapêutica. O Receptor de Fator de Crescimento Epidérmico Humano 2 (HER-2) acumula as duas propriedades funcionando como fator preditivo e prognóstico⁴⁻⁵.

O HER-2 foi descrito inicialmente em camundongos por Shih et al⁶ e Schechter et al. demonstraram que é homólogo do fator de crescimento celular epidérmico (EGFR)⁷. Posteriormente foi demonstrado que este fator de crescimento estava amplificado em algumas linhagens de células de câncer de mama humano e foi denominado HER-2 (King et al, 1985)⁸.

O HER-2 pertence à família dos receptores de crescimento. A sua super-expressão tem sido associada a maior agressividade biológica do tumor e a resistência a alguns tipos de tratamento⁴⁻⁹. O HER-2 codifica uma proteína de membrana das células tumorais que fazem que estas se desenvolvam mais rápido e aumentem a sua duplicação celular, tornando os tumores mais agressivos¹⁰⁻¹¹. Diversos estudos têm sugerido que existe uma relação entre o estado HER-2 e a resistência ao tratamento hormonal¹²⁻¹³. O HER-2 é amplificado em 15% a 25% dos casos de câncer de mama¹⁰⁻¹⁴⁻¹⁵.

A avaliação diagnóstica do estado HER-2 tem grande impacto nas decisões sobre o tratamento de pacientes com câncer de mama. Além do valor prognóstico de HER-2, ou seja, o comportamento mais agressivo dos tumores HER-2 positivo, a positividade possui um grande valor preditivo em relação aos benefícios clínicos a serem obtidos com tratamentos específicos como o uso de traztuzumabe e lapatinib¹⁶.

Considerando-se o potencial de agressividade da presença do HER-2 decidiu-se analisar a super-expressão do HER-2 e sua correlação com outros fatores prognósticos, nas pacientes portadoras de câncer de mama.

SUJEITOS E MÉTODOS

Estudo de coorte histórico que analisou dados de 90 pacientes com diagnóstico de carcinoma ductal infiltrante de mama. As pacientes estudadas foram submetidas a tratamento cirúrgico e acompanhadas no Hospital Regional de Sobradinho (HRS) no período de 1 de Janeiro de 2005 à 1 de dezembro de 2010.

O HRS é um hospital público de nível secundário responsável pela prestação de assistência às pacientes com câncer de mama de sua área de abrangência.

As fontes utilizadas na coleta de dados foram os registros de anatomia patológica, incluindo laminas e blocos de parafina, e os prontuários clínicos do hospital. As informações obtidas dizem respeito às manifestações clínicas, características histopatológicas do tumor e desfechos como a recidiva e sobrevida. Os dados avaliados na histopatologia foram o tamanho tumoral, grau histológico, grau nuclear, multicentricidade, invasão linfocascular, comprometimento linfonodal. Os dados coletados foram registrados em formulário estruturado e desenhado especificamente para o estudo.

A investigação da presença da super-expressão do HER-2 foi realizada por meio de avaliação de laudos de Imunohistoquímica (IH) e o resultado foi expresso de acordo com os critérios desenvolvidos em 2007 pela Sociedade Americana de oncologia Clínica (ASCO) em conjunto com o Colégio Americano de Patologia (CAP)¹⁷. Foi considerado super-expressão de HER-2 a intensa e uniforme coloração da membrana em 30% ou mais das células tumorais, expressado no laudo com 3+.

As pacientes foram divididas em dois grupos: Grupo A as que tinham super-expressão do HER-2 e grupo B as que não tinham super-expressão. Foram analisadas as

características clínicas, patológicas, eventos adversos, sobrevida global e sobrevida livre de doença e comparada à razão de prevalência entre as pacientes com super-expressão do HER-2.

As informações de mortalidade foram obtidas do Sistema de Informação de Mortalidade (SIM) do Ministério de Saúde. O estadiamento clínico foi realizado de acordo com a classificação TNM¹⁸. A graduação histológica foi efetuada segundo os critérios propostos por Scarff-Bloom-Richardson (SBR) modificado por Elston e Ellis¹⁹.

Foram excluídas do estudo as pacientes que receberam tratamento de quimioterapia neoadjuvante, pacientes tratadas em outra instituição, perda de prontuários, informações incompletas e pacientes tratadas com o anticorpo monoclonal específico para HER-2, Trastuzumabe²⁰⁻²¹.

Análise estatística

O marcador HER-2 (Positivo) foi considerado a variável dependente do estudo e como variáveis independentes a idade, o tamanho do tumor, estadiamento, grau nuclear, status linfonodal e receptores hormonais.

Análises de regressão de Poisson univariada com variância robusta foram conduzidas para as variáveis independentes. Aquelas que apresentaram p-valor $< 0,25^{23}$ foram selecionadas para serem incluídas como covariáveis na análise múltipla. O critério de informação de Akaike modificado²⁴ (QIC_u) foi utilizado para a seleção dos modelos multivariados. Escolhendo-se aquele modelo que apresentasse o menor valor de QIC_u . Para o modelo selecionado uma regressão de Poisson Múltipla, com variância robusta foi ajustada aos dados. Razões de prevalência por ponto e por intervalo foram obtidas para o modelo selecionado.

As análises de sobrevida global foram realizadas considerando o tempo entre o diagnóstico de câncer de mama e o óbito, metástase ou último seguimento. Na análise estatística, a sobrevida global (SV) e o intervalo livre de doença (ILD), como também os tempos médios foram estimados pelo método de Kaplan-Meier. Para comparar os valores de sobrevida foi utilizado o teste de logrank.

A significância estatística foi determinada com $P < 0,05$. A estatística e análises foram realizadas com o software SAS, versão 9.2.

Comitê de ética

O trabalho foi avaliado e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Secretaria de Estado de Saúde do DF (Anexo 1).

RESULTADOS

Foram avaliados os dados clínicos consignados nos prontuários de 162 pacientes e foram excluídas aquelas com dados incompletos, ausência de seguimento e ausência de dados de imunohistoquímica. No total foram incluídas 90 pacientes.

A prevalência de super-expressão do HER-2 na amostra foi de 15,55%. A faixa etária de idade das pacientes estudadas foi de 40 até 91 anos com média de idade de 55,47 com desvio padrão de 13,51.

A análise univariada mostrou que a idade no momento do diagnóstico não é um fator significativo de prevalência para a presença do HER-2. (Tabela 1)

Tabela 1: Razão de prevalência dos casos HER-2 positivo de acordo com a idade em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010

Idade em anos	HER-2 Positivo		RP (IC 95 %)	Valor - p
	N	% (IC 95 %)		
< 40	1	14,29 (0,00 – 40,71)	1,79 (0,18 – 16,93)	0,7501
40 – 49	5	20,83 (4,27 – 37,40)	2,60 (0,56 – 12,16)	
50 – 59	2	8,00 (0,00 – 18,84)	1,00	
60 – 69	2	14,29 (0,00 – 32,97)	1,79 (0,28 – 11,33)	
>= 70	4	20,00 (2,13 – 37,87)	2,50 (0,51 – 12,29)	

O tamanho do tumor foi avaliado de acordo com sua dimensão em cm expressa no laudo de anatomia patológica por ser um dado de alta confiabilidade. Não se encontrou significância na razão de prevalência de HER-2 em relação a tamanho tumoral. (Tabela 2)

Tabela 2: Razão de prevalência dos casos HER-2 positivo de acordo com o tamanho do tumor em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010

Tamanho do tumor (cm)	HER-2 Positivo		RP (IC 95 %)	Valor - p
	N	% (IC 95 %)		
< 2	3	23,08 (0,00 – 46,43)	1,61 (0,52 – 5,02)	0,4069
>= 2	11	14,29 (6,32 – 22,25)	1,00	

Tabela 3: Razão de prevalência dos casos HER-2 positivo de acordo com o estado menstrual em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010

Estado menstrual	HER-2 Positivo		RP (IC 95 %)	Valor - p
	N	% (IC 95 %)		
Pré-menopausada	10	19,23 (8,31 – 30,15)	1,83 (0,62 – 5,39)	0,2748
Pós-menopausada	4	10,53 (0,58 – 20,47)	1,00	

O estadiamento clínico usado também como parâmetro para estabelecer prognóstico e estimar os tratamentos, não mostrou no presente estudo uma significância para a presença do HER-2 (Tabela 4).

Tabela 4: Razão de prevalência dos casos HER-2 positivo de acordo com o estadiamento clínico em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010

Estadiamento Clínico (AJCC)*	HER-2 Positivo		RP (IC 95 %)	Valor - p
	N	% (IC 95 %)		
Estádio 1	5	27,78 (6,68 – 48,87)	2,36 (0,82 – 6,80)	0,2684
Estádio 2	6	11,76 (2,75 – 20,78)	1,00	
Estádio 3	3	14,29 (0,00 29,54)	1,21 (0,33 – 4,41)	

*American Joint Committee on Cancer (AJCC).

Na análise univariada encontrou-se um resultado estatisticamente significativo do HER-2 relacionado com a presença do receptor de estrogênio, progesterona e grau histológico (Tabela 5 e Tabela 6)

Tabela 5: Razão de prevalência dos casos HER-2 positivo de acordo com o receptor de estrogênio e receptor de progesterona em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010

Variáveis	HER-2 Positivo		RP (IC 95 %)	Valor - p
	N	% (IC 95 %)		
Receptor Estrogênio				0,0356
Negativo	6	9,84 (2,22 – 17,45)	1,00	
Positivo	8	27,59 (11,00 – 44,17)	2,80 (1,07 – 7,34)	
Receptor Progesterona				0,0059
Negativo	4	6,90 (0,25 – 13,54)	1,00	
Positivo	10	31,25 (14,88 – 47,62)	4,53 (1,54 – 13,29)	

Tabela 6: Razão de prevalência dos casos HER-2 positivo de acordo com o Grau Histológico em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010

Grau Histológico	HER-2 Positivo		RP (IC 95 %)	Valor - p
	N	% (IC 95 %)		
Mal Diferenciado	1	3,45 (0,00 - 10,22)	1,00	
Bem Diferenciado	13	21,31 (10,83 - 31,79)	6,18 (0,85 - 45,00)	0,0722

Não foi observado prevalência estatisticamente significativa entre o HER-2 e o estado linfonodal (Tabela 7).

Tabela 7: Razão de prevalência dos casos HER-2 positivo de acordo com o estado linfonodal em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010

Estado Linfonodal	HER-2 Positivo		RP (IC 95 %)	Valor - p
	N	% (IC 95 %)		
Negativo	5	11,90 (1,92 - 21,89)	1,00	
Positivo	9	18,75 (7,49 - 30,01)	1,57 (0,57 - 4,33)	0,3789

A análise multivariada (Tabela 8) mostrou que a prevalência de resultados positivos encontrados do marcador HER-2, em pacientes com câncer de mama é 2,92 vezes maior naqueles com receptor de estrogênio negativo do que naqueles com receptor de estrogênio positivo ($p = 0,0007$) e é 8,84 vezes maior naqueles com receptor de progesterona positivo do que naqueles com receptor de progesterona negativo ($p < 0,0001$). A prevalência de resultados positivos encontrados no marcador HER-2, em pacientes com câncer de mama, não foi estatisticamente diferente daqueles com grau histológico bem diferenciado quando comparados com aqueles com grau histológico mal diferenciado ($p = 0,1323$).

Tabela 8: Análise multivariada do HER-2 - Regressão de Poisson Múltipla, razão de prevalência em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010

Variável	RP	IC 95 %	Qui-quadrado	p-valor
Receptor Estrogênio				
Negativo	2,92	1,58 - 5,40	11,60	0,0007
Positivo	1,00	-	-	-
Receptor Progesterona				
Negativo	1	-	19,83	< 0,0001
Positivo	8,84	3,39 - 23,09	-	-
Grau Histológico				
Mal Diferenciado	1,00			
Bem Diferenciado	4,59	0,63 - 33,32	2,26	0,1323

Na análise de sobrevida livre de doença foi observado que o tempo médio de ocorrência de metástase nas pacientes HER 2 negativo é de 46,6 meses e nas pacientes HER 2 positivo é de 41,4 meses. Não existe diferença estatisticamente significativa das curvas de sobrevida livre de doença entre os dois grupos ($p = 0,8213$) (Figura 1).

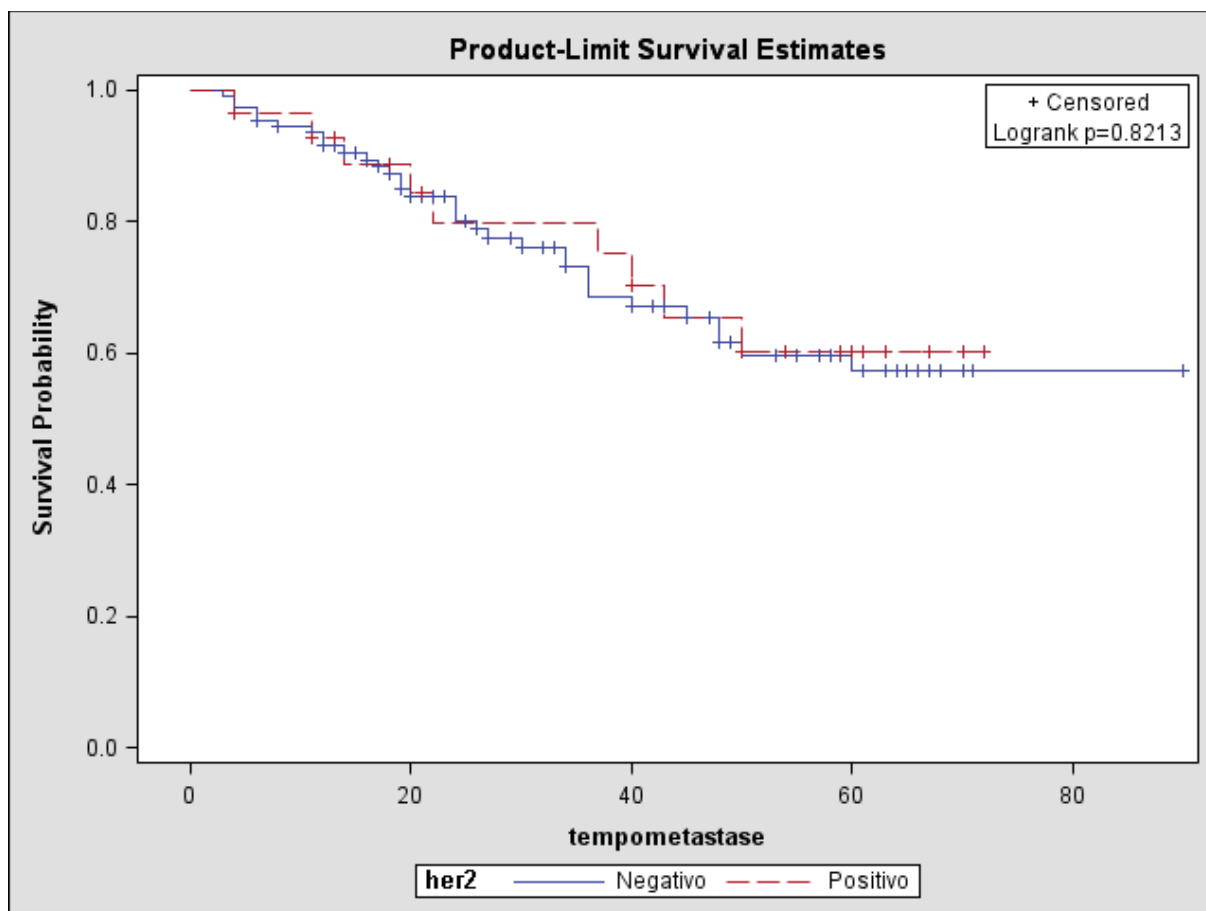


Figura 1: Sobrevida Livre de doença para casos HER-2 em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010

Na análise de sobrevida foi observado que o tempo médio de morte das pacientes HER 2 negativo é de 48,6 meses e as pacientes HER 2 positivo é de 50,9 meses. Não existe diferença estatisticamente significativa nas curvas de sobrevida entre os dois grupos ($p=0,8891$) (Figura 2).

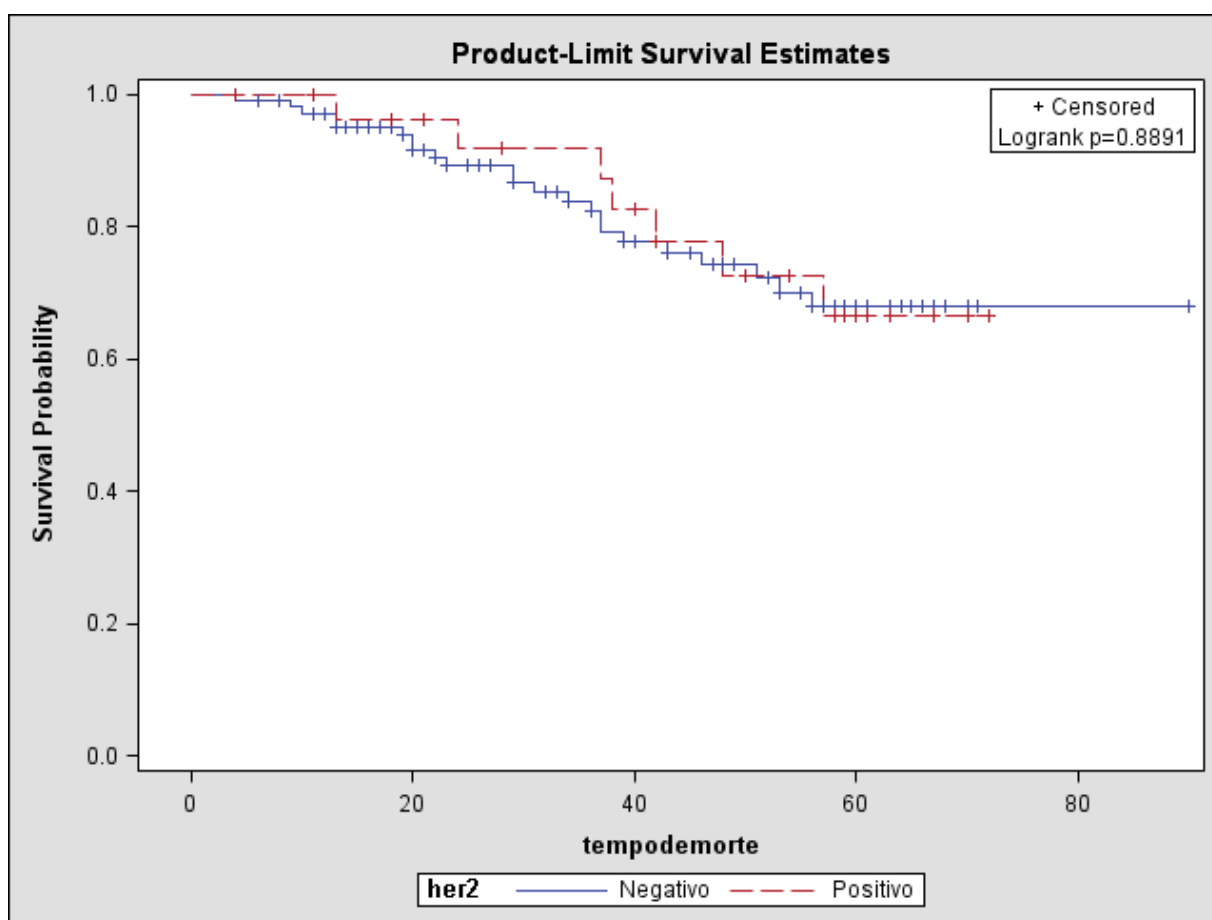


Figura 2: Sobrevida para casos HER-2 em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010

A análise estatística da sobrevida livre de doença em relação ao comprometimento axilar mostrou que o tempo médio de ocorrência de metástase é de 46,4 meses nos casos com axila negativa, nos casos com 1 a 4 linfonodos comprometidos é de 49,6 meses e nos casos com mais de 4 linfonodos comprometidos é de 27,29 meses.

A probabilidade de sobrevida livre de doença para pacientes com axila sem nenhum linfonodo comprometido não difere estatisticamente da probabilidade de sobrevida para pacientes com axila com 1 a 4 linfonodos ($p = 0,0803$); a probabilidade de sobrevida livre de doença para pacientes com axila sem nenhum linfonodo comprometido difere estatisticamente da probabilidade para pacientes com axila com mais de 4 linfonodos comprometidos ($p < 0,0001$), e a probabilidade de sobrevida livre de doença para pacientes com axila com 1 a 4 linfonodos difere estatisticamente da probabilidade para pacientes com axila com mais de 4 linfonodos ($p = 0,0009$) (Figura 3).

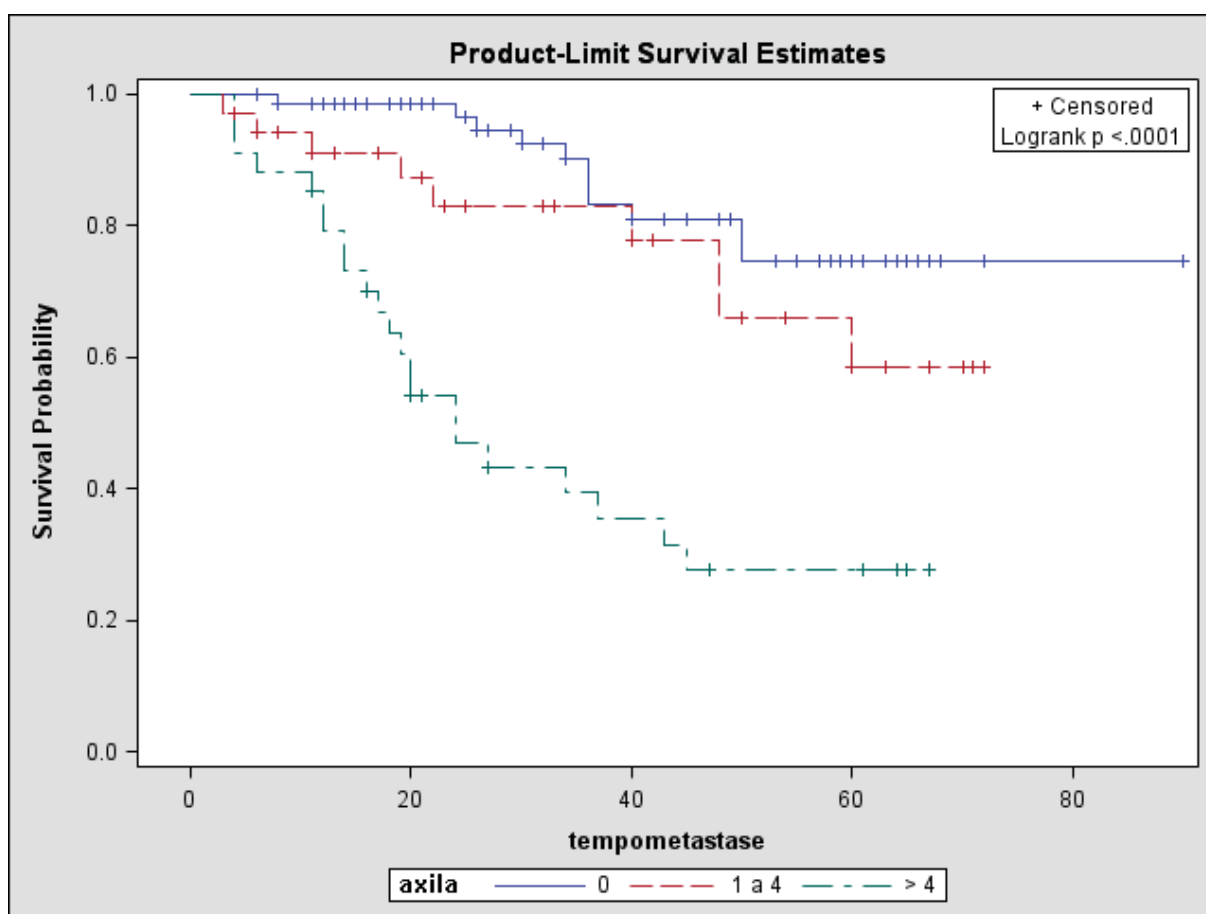


Figura 3: Sobrevida livre de doença em relação ao comprometimento axilar em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010

A análise estatística da sobrevida livre de doença em relação ao tamanho do tumor mostrou que em casos com tumor menor de 2 cm o tempo médio de ocorrência de metástase é de 47,3 meses e casos com tumor igual ou maior de 2 cm o tempo médio de ocorrência de metástase é de 44,5 meses. O resultado do teste logrank mostrou que existe diferença estatisticamente significativa das curvas de sobrevida livre de doença entre os casos com tumor menor de 2 cm e os casos com tumor igual ou maior de 2 cm ($p = 0,011$) (Figura 4).

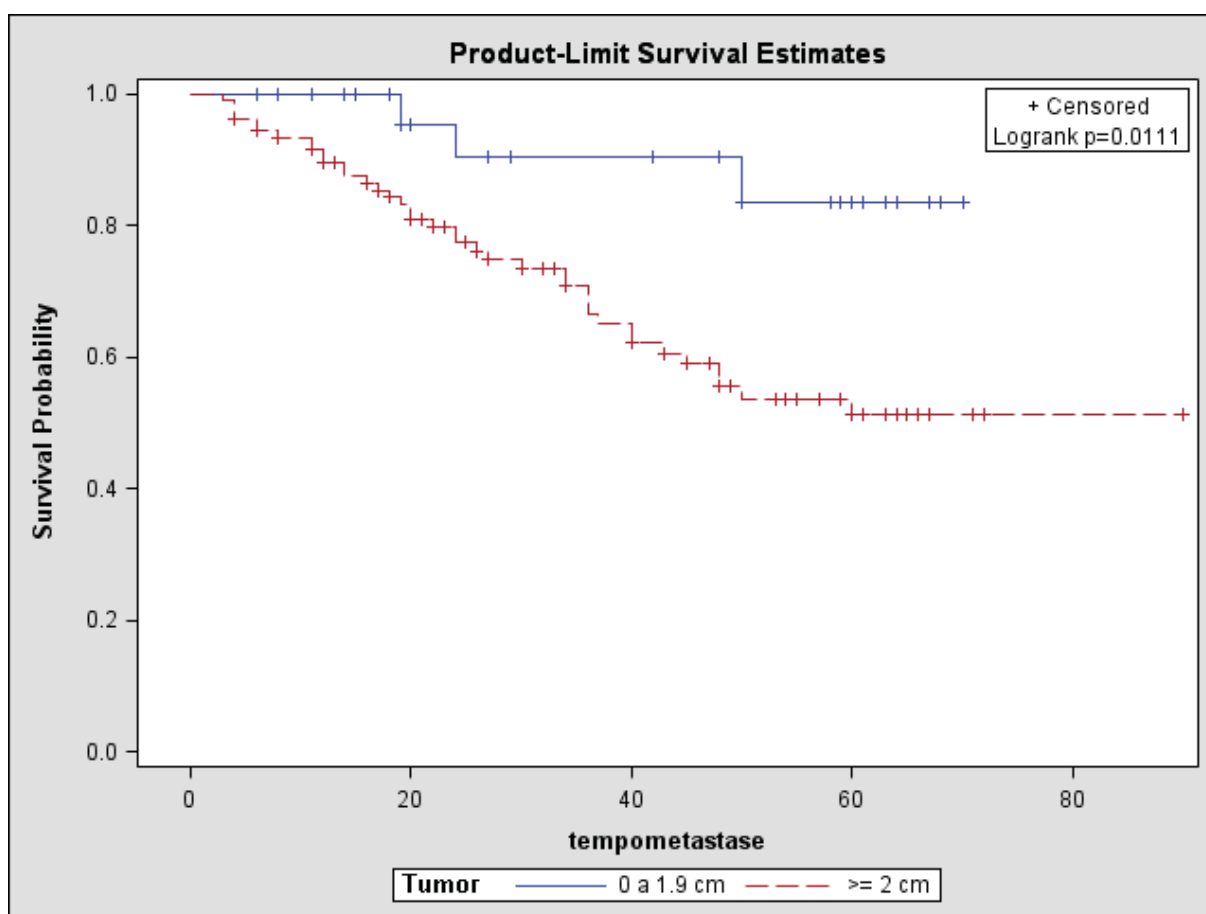


Figura 4: Sobrevida livre de doença em relação ao tamanho do tumor em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010

O tempo médio de morte para os casos com axila negativa é de 52,9 meses, para os casos com 1 a 4 linfonodos comprometidos o tempo médio de morte é de 48,5 meses e para os casos com mais de 4 linfonodos comprometidos é de 38,89 meses.

A probabilidade de sobrevivência para pacientes com axila negativa não difere estatisticamente da probabilidade de sobrevivência para pacientes com axila comprometida com 1 a 4 linfonodos ($p = 0,6041$); A probabilidade de sobrevivência para pacientes com axila sem nenhum linfonodo difere estatisticamente da probabilidade de sobrevivência para pacientes com axila com mais de 4 linfonodos comprometidos ($p < 0,0001$); e também a probabilidade de sobrevivência para pacientes com axila com 1 a 4 linfonodos comprometidos difere estatisticamente da probabilidade de sobrevivência para pacientes com axila com mais de 4 linfonodos comprometidos ($p < 0,0001$) (Figura 5).

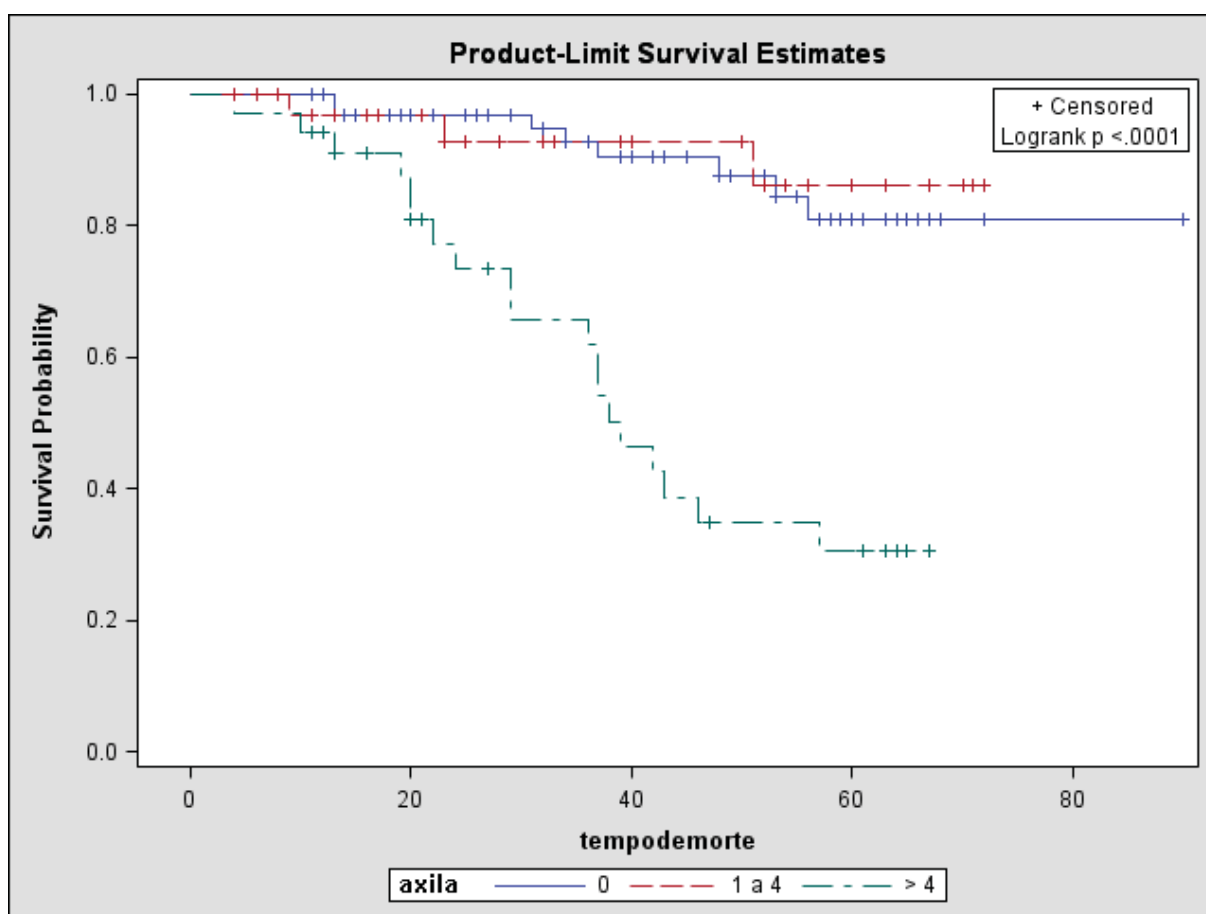


Figura 5: Sobrevida em relação ao comprometimento axilar em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010

Nos casos com tumores menores de 2 cm o tempo médio de morte é de 56 meses e em casos com tumores iguais ou maiores de 2 cm é de 47,9 meses. O resultado do teste logrank mostrou que existe diferença estatisticamente significativa das curvas de sobrevivência entre os casos com tumores menores de 2 cm e os casos com tumores iguais ou maiores de 2 cm ($p = 0,0103$) (Figura 6).

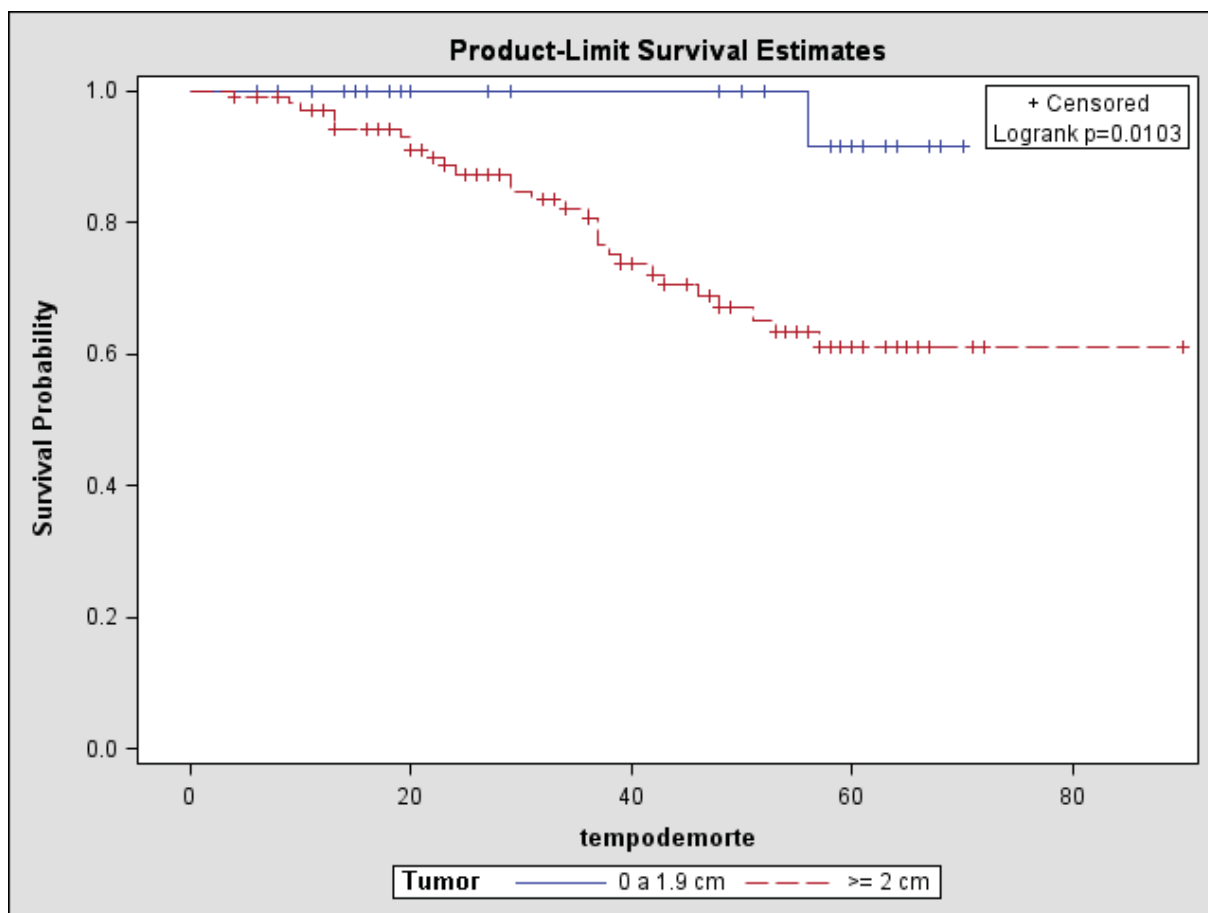


Figura 6: Sobrevida em relação ao tamanho do tumor em portadores de câncer de mama no HRS entre 2005 e 2010

DISCUSSÃO

O índice de super-expressão do HER-2 neste estudo foi de 15,55% o qual é comparável ao que tem sido descrito na literatura¹⁰⁻¹⁴⁻¹⁵.

Diferentes estudos²⁵⁻²⁶ mostraram que tumores em pacientes jovens comumente apresentam fatores de mau prognóstico, tais como alto grau de anaplasia, receptor hormonal negativo, super-expressão de HER-2 e alta taxa de linfonodos positivos. No presente estudo a idade não foi considerado um fator significativo para a presença do HER-2. Nós não encontramos nenhuma associação entre a expressão do HER-2 e a idade de apresentação do câncer.

Historicamente o volume do tumor é um dos fatores prognósticos independentes mais importantes. Sabemos que pacientes com tumores menores de 1,0 cm tem entre 10% a 20% de possibilidade de comprometimento linfonodal²⁷⁻²⁸ e que pacientes com tumores menores de 1,0 cm com linfonodos negativos têm uma sobrevida livre de doença em 10 anos de 90%²⁹. A associação do tamanho tumoral e o HER-2 no presente estudo não se mostrou significativa.

Vários estudos descrevem uma associação entre tumores HER-2 positivos e receptores de estrogênio negativos, sendo esta associação relacionada com uma resistência ao tratamento com Tamoxifeno³⁰. Encontramos uma associação entre a super-expressão do HER-2 e a ausência do receptor de estrogênio compatível com a literatura mostrando que estes pacientes não se beneficiam de terapia endócrina e também associação entre o HER-2 e o receptor de progesterona positivo, o qual esta de acordo com pesquisas mais recentes³¹⁻³², entretanto sem uma explicação coerente para tal fato.

O grau histológico é descrito como fator prognóstico importante, independente ou em associação com outros fatores prognósticos. Encontramos uma associação entre a presença do HER-2 e os tumores de baixo grau o qual difere dos dados da literatura. Ao realizar análise multivariada esta associação não foi estatisticamente significativa, portanto podemos afirmar que na presente amostra a presença do HER-2 não tem relação com o grau histológico do tumor.

Ao considerar as características clínicas, patológicas e biológicas dos tumores de mama, podemos concluir que o comprometimento linfonodal continua sendo o principal fator prognóstico dos cânceres de mama. No presente estudo foram considerados a axila negativa, axila comprometida com até 4 linfonodos e axila comprometida com mais de

4 linfonodos; foi avaliada esta característica em relação com a presença do HER-2 e não encontramos nenhuma associação estatisticamente significativa o que pode ser explicado pelo número menor de casos avaliados.

As curvas de sobrevida livre de doença e sobrevida global para os casos HER-2 e o teste logrank não mostraram diferença significativa entre os casos que super-expressam o HER-2 e os casos considerados negativos o qual também já foi demonstrado em outros estudos³³, mais difere dos grandes estudos que mostram uma diferença na sobrevida⁴⁻⁵⁻¹⁰⁻¹⁶. O tempo médio de surgimento de metástases e o tempo médio de morte das pacientes HER-2 positivo apesar de ser inferior neste estudo, não é estatisticamente significativo. Possivelmente o aumento do tamanho amostral seja importante em futuros estudos para confirmar a agressividade dos tumores que super-expressam o HER-2.

A avaliação do comprometimento axilar isoladamente é fundamental sob o ponto de vista clínico e histopatológico, pois estabelece o prognóstico e orienta a terapêutica³⁴⁻³⁵⁻³⁶⁻³⁷. O número absoluto de linfonodos envolvidos é também de importância prognóstica; pacientes com 4 ou mais linfonodos envolvidos têm um prognóstico pior do que aqueles com menos de 4 linfonodos envolvidos.³⁸⁻³⁹

Analizamos todos os casos de acordo com o grau de comprometimento linfonodal, considerando axila negativa, axila com 1 a 4 linfonodos comprometidos e axila com mais de 4 linfonodos comprometidos. O resultado foi estatisticamente significativo de pior prognóstico, com menor sobrevida livre de doença e menor sobrevida global para os casos com mais de 4 linfonodos. Este dado está de acordo com os dados da literatura e nos indica claramente que o comprometimento linfonodal da axila é um dado adverso, sendo de fundamental importância o diagnóstico precoce.

Historicamente o volume do tumor é um dos fatores mais importantes, sabemos que pacientes com tumores menores de 1,0 cm tem entre 10% a 20% de possibilidade de comprometimento linfonodal⁴⁰⁻⁴¹ e que pacientes com tumores menores de 1,0 cm com linfonodos negativos têm uma sobrevida livre de doença em 10 anos de 90%⁴². O volume tumoral dos casos do presente estudo mostrou ser um fator de prognóstico importante, pois o tempo de sobrevida livre de doença é menor e a mortalidade é maior em pacientes que apresentaram, no momento do diagnóstico, tumores com volume maior de 2 cm o qual é estatisticamente significativo.

CONCLUSÃO

A presença da super-expressão do HER-2 neste estudo está associada com a ausência do receptor de estrogênio e a presença do receptor de progesterona. Não encontramos associação entre a super-expressão do HER-2 e aumento de mortalidade e da diminuição da sobrevida livre de doença. Isoladamente e independentemente o comprometimento linfonodal foi o principal fator prognóstico identificado, mostrando que pacientes com mais de 4 linfonodos comprometidos tem maior mortalidade e menor sobrevida livre de doença. O tamanho do tumor é um fator que indica agressividade tumoral e neste estudo foi também associado com maior mortalidade.

O presente estudo aponta para a importância de realizar o diagnóstico de câncer de mama precocemente pois uma intervenção na história natural da doença muda significativamente a sobrevida das pacientes principalmente sob a ótica da avaliação do tamanho do tumor e estado axilar. Este estudo não demonstrou que a super-expressão do HER-2 se associa a maior agressividade, porém este fato é justificado pelo tamanho amostral.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. IARC (2008). World cancer report 2008. Lyon, International Agency for Research on Cancer.
2. Instituto Nacional de Câncer (INCA), Ministério da Saúde. Estimativa 2010, incidência do Câncer no Brasil. INCA 2010
3. Clark GM. Prognostic and predictive factors. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Hellman S, editors. Diseases of breast. 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p. 461-70.
4. Ferrero-Pous M, Hacene K, Bouchet C et al. Relationship between c-erbB-2 and other tumor characteristics in breast cancer prognosis. Clin. Cancer Res 2000; 6:4745-4754.
5. Toikkanen S, Helin H, Isola J Joensuu H. Prognostic significance of HER-2 oncoprotein expression in breast cancer: a 30-year follow-up. J Clin Oncol 1992;10: 1044-1048.
6. Shih C, Padhy LC, Murray M, Weinberg RA (1981) Transforming genes of carcinomas and neuroblastomas introduced into mouse fibroblasts. Nature 290: 261-264
7. Schechter AL, Hung MC, Vaidyanathan L, Weinberg RA, Yang-Feng TL, Francke U, Ullrich A, Coussens L (1985) The neu gene: an erbB homologous gene distinct from and unlinked to the gene encoding the EGF receptor. Science 229: 976-978
8. King CR, Kraus MH, Aaronson SA (1985) Amplification of a novel v-erbB related gene in a human mammary carcinoma. Science 229: 974-976
9. Press MF, Bernstein L, Thomas PA et al. HER-2/neu gene amplification characterized by fluorescence in situ hybridization: poor prognosis in node-negative breast carcinomas. J Clin Oncol 1997;15[8]:2894-2904.
10. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of HER-2/neu oncogene. Science 1987; 235: 177-182.
11. Di Fiore PP, Pierce JH, Fleming TP, Hazan R, Ullrich A. King CR, Schlessinger J, Aaronson SA. Overexpression of the human EGF receptor confers an EGF-dependent transformed phenotype to NIH 3T3 cells. Cell 1987; 51:1063-1070

12. Benz CC, Scott GJ, Sarup JC et al: Estrogen-dependent tamoxifen-resistant Tumorigenic growth of MCF-7 cells transfected with HER-2/neu. *Breast Cancer Res Treat* 1992; 24:85-95
13. Fernandez MJ, Farina GJ, Arangoncillo BP: Immunohistochemical expression of p-53 and c-erb-2 in breast carcinoma: relation with epidemiologic factors, histologic features and prognosis. *Gen & Diagnostic Pathol* 1997; 142: 289-96
14. Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC, Chen E, Gray A, McGrath J, Seeburg PH, Libermann TA, Schlessinger J, Francke U. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985; 230:1132-1139
15. Konecny G, Pauletti G, Pegram M, Untch M, Dandekar S, Aguilar Z, Wilson C, Rong HM, Bauerfeind I, Felber M, Wang H-J, Beryt M, Seshadri R, Slamon DJ. Quantitative association between HER-2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor positive primary breast cancer. *J Natl Cancer inst* 2003; 95: 142-153.
16. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER-2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1659-1672.
17. Wolff A, Hammond M, Schwartz J, et al: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 25:118-145, 2007
18. American Joint Committee on Cancer (AJCC). Cancer staging manual 7th ed. Edge SB, Byrd DR, Carducci MA, Compton CC, Fritz AG, Greene F, Trotti A. eds New York: Springer; 2009
19. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991; 19:403-10.
20. Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER-2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1673-84.
21. Goldenberg MM. Trastuzumab, a recombinant DNA-derived humanized monoclonal antibody, a novel agent for the treatment of metastatic breast cancer. *Clin Ther* 1999; 21: 309-18.

22. Lin DY, Wei LJ. The robust Inference for the Cox Proportional Hazards Model. *J Am Stat Assoc.* 1989;84(408):1074-8. DOI: 10.2307/2290085
23. Hosmer DW, Lemeshow S. Applied logistic regression. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, p. 1–373.
24. Pan, W. (2001), “Akaike’s Information Criterion in Generalized Estimating Equations,” *Biometrics*, 57, 120–125.
25. Soerjomataram I, Louwman MW, Ribot JG, Roukema JA, Coebergh JW. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;107(3):309-30. DOI: 10.1007/s10549-007- 9556-1
26. Walker RA, Lees E, Webb MB, Dearing SJ. Breast carcinomas occurring in young women (<35 years) are different. *Br J Cancer.* 1996;74(11):1796-800.
27. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node estado, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer.* 1989;63:181–187.
28. Leitner SP, Swern AS, Weinberger D, et al. Predictors of recurrence for patients with small (one centimeter or less) localized breast cancer (T1a,b N0 M0). *Cancer.* 1995;76:2266–2274.
29. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW, Norton L. Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma: analysis of 767 T1N0M0/T2N0M0 patients with long-term follow up. *J Clin Oncol.* 1993;11:2090–2100.
30. Houston S.J, Plunkett T.A., Barnes D.M. et al: Overexpression of c-erb2 is an independent marker of resistance to endocrine therapy in advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1999; 79: 1220-1226
31. Antunes A., Silva T., Godinho I., Amaral N., Oliveira C.. Valor prognóstico da expressão por Imuno-histoquímica do c-erb-2 Em doentes sob terapêutica adjuvante com Tamoxifeno por carcinoma primário da mama. *Acta Med Port* 2004; 17: 271-276
32. Purdie CA, Baker L, Ashfield A, Chatterjee S, Jordan LB, Quinlan P, Adamson DJ, Dewar JA, Thompson AM. Increased mortality in HER2 positive, oestrogen receptor positive invasive breast cancer: a population-based study. *Br J Cancer.* 2010 Aug 10;103(4):475-81. Epub 2010 Jul 27.

33. Van de Vijver MJ, Peterse JL, Mooi WJ et al. Neu-protein overexpression in breast cancer. *N Engl J Med* 1988;319:1239-1245.
34. Leitner SP, Swern AS, Weinberger D, et al. Predictors of recurrence for patients with small (one centimeter or less) localized breast cancer (T1a,b N0 M0). *Cancer*. 1995;76:2266–2274.
35. Cady B. Use of primary breast carcinoma characteristics to predict lymph node metastases. *Cancer*. 1997;79:1856–1861.
36. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW, Norton L. Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma: analysis of 767 T1N0M0/T2N0M0 patients with long-term follow up. *J Clin Oncol*. 1993;11:2090–2100.
37. Sloane JP. National coordinating group for breast screening pathology: consistency of histopathological reporting of breast lesions detected by screening. *Eur J Cancer*. 1994;30A:1414–1419.
38. Fisher ER, Anderson S, Redmond C, Fisher B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project Protocol B-06: 10-year pathologic and clinical prognostic discriminants. *Cancer*. 1993;71:2507–2514.
39. Veronesi U, Galimberti V, Zurrada S, et al. Prognostic significance of number and level of axillary nodal metastases in breast cancer. *Breast*. 1993;2:224–228.
40. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node estado, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer*. 1989;63:181–187.
41. Leitner SP, Swern AS, Weinberger D, et al. Predictors of recurrence for patients with small (one centimeter or less) localized breast cancer (T1a,b N0 M0). *Cancer*. 1995;76:2266–2274.
42. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW, Norton L. Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma: analysis of 767 T1N0M0/T2N0M0 patients with long-term follow up. *J Clin Oncol*. 1993;11:2090–2100.

ANEXO

ANEXO 1 - PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA



GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Projeto Nº

457/09

PARECER FINAL

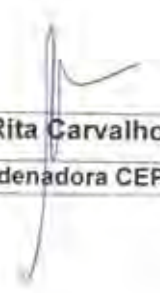
I – IDENTIFICAÇÃO

Título:	Fatores prognósticos em câncer de mama: análise da expressão do Cerb-2 e sua correlação com outros fatores prognósticos.
Pesquisador responsável:	médico
Data de entrada da pendência do projeto no CEP:	16/11/09

II – PARECER DO CEP/SES-DF FRENTE ÀS RESOLUÇÕES 196/96 CNS/MS E COMPLEMENTARES

Projeto aprovado.

Brasília, 02 de dezembro de 2009.


Dra Maria Rita Carvalho Garbi Novaes
Coordenadora CEP/SES-DF

ANEXO 2 - ESTADIAMENTO DO CÂNCER DE MAMA

CLASSIFICAÇÃO TNM

Esta classificação aplica-se apenas aos carcinomas, sendo indispensável a confirmação histológica. Recomenda-se que, quando houver múltiplos tumores, o maior deles será considerado para definição dos parâmetros e quando houver tumores sincrônicos bilaterais a classificação de cada um deles será isolada.

Os Quadros a seguir sintetizam as classificações conforme o tamanho do tumor (T), comprometimento nodal (N) e metástases (M), além de agrupar, por estádios, as diversas combinações possíveis.

TAMANHO DO TUMOR (T)

Tx	tumor não pode ser avaliado
Tis	carcinoma in situ
T1	tumor com até 2 cm. em sua maior dimensão
T1	mic - carcinoma microinvasor (até 1 mm)
T1a	tumor com até 0,5 cm em sua maior dimensão
T1b	tumor com mais de 0,5 e até 1 cm em sua maior dimensão
T1c	tumor com mais de 1 cm. e até 2 cm em sua maior dimensão
T2	tumor com mais de 2 e até 5 cm em sua maior dimensão
T3	tumor com mais de 5 cm. em sua maior dimensão
T4	qualquer T com extensão para pele ou parede torácica
T4a	extensão para a parede torácica
T4b	edema (incluindo peau d'orange), ulceração da pele da mama, nódulos cutâneos satélites na mesma mama
T4c	associação do T4a e T4b
T4d	carcinoma inflamatório

Observações:

- O comprometimento do músculo grande peitoral não caracteriza T4.
- Presença de retração da pele ou papila não interfere no estadiamento.

LINFONODOS REGIONAIS (N)

Nx	Os linfonodos regionais não podem ser avaliados
N0	Ausência de metástase
N1	Linfonodo(s) homolateral(is) móvel(is) comprometido(s)
N2	Metástase para linfonodo(s) axilar(es) homolateral(is), fixos uns aos outros ou fixos a estruturas vizinhas ou metástase clinicamente aparente somente para linfonodo(s) da cadeia mamária interna homolateral
N2a	Metástase para linfonodo(s) axilar(es) homolateral(is) fixo(s) uns aos outros ou fixos à estruturas vizinhas
N2b	Metástase clinicamente aparente somente para linfonodo(s) da cadeia mamária interna homolateral, sem evidência clínica de metástase axilar
N3	Metástase para linfonodo(s) infraclavicular(es) homolateral(is) com ou sem comprometimento do(s) linfonodo(s) axilar(es), ou para linfonodo(s) da mamária interna homolateral clinicamente aparente na presença de evidência clínica de metástase para linfonodo(s) axilar(es) homolateral(is), ou metástase para linfonodo(s) supraclavicular(es) homolateral(is) com ou sem comprometimento do(s) linfonodo(s) axilar(es) ou da mamária interna
N3a	Metástase para linfonodo(s) infraclavicular(es) homolateral(is)
N3b	Metástase para linfonodo(s) da mamária interna homolateral e para linfonodo(s) axilar(es)
N3c	Metástase para linfonodo(s) supraclavicular(es) homolateral(is)

Observação: Clinicamente aparente é definido como detectado por estudos de imagem (exceto linfocintigrafia), pelo exame clínico ou pelo diagnóstico patológico macroscópico.

METÁSTASES (M)

Mx	metástase à distância não pode ser avaliada
M0	ausência de metástase à distância
M1	presença de metástase à distância (incluindo LFN supraclaviculares)

ESTADIAMENTO TNM DO CÂNCER DE MAMA POR AGRUPAMENTOS

Estádio 0	Tis N0 M0
Estádio I	T1 N0 M0
Estádio II A	T0 N1 M0
	T1 N1 M0
	T2 N0 M0
Estádio II B	T2 N1 M0
	T3 N0 M0
Estádio III A	T0 N2 M0
	T1 N2 M0
	T2 N2 M0
	T3 N1 M0
	T3 N2 M0
Estádio III B	T4 N0 M0
	T4 N1 M0
	T4 N2 M0
Estádio III C	Tqq N3 M0*
Estádio IV	Tqq Nqq M1*

Fonte: UICC, 2002; * qq = qualquer