

PCNA como fator prognóstico do câncer de mama em estágio clínico II

PCNA as prognostic factor of breast cancer clinical stage II

Olavo Pedroso Cezar Junior
Gustavo Antonio de Souza
Marcelo Alvarenga

Resumo

O objetivo deste trabalho foi estudar o fator de proliferação celular (PCNA) de mulheres com carcinoma de mama estágio clínico II e correlacioná-lo com a evolução da paciente. Foi realizado um estudo retrospectivo com 74 mulheres do Ambulatório de Mastologia do Hospital de Ensino São Francisco, da Universidade São Francisco, de Bragança Paulista. Estas mulheres foram tratadas com cirurgia, e as que apresentaram comprometimento axilar receberam terapia adjuvante com quimioterapia, radioterapia e hormonoterapia. O seguimento médio foi de 68,7 meses e a idade média, de 53,1 anos (variando de 30 a 82 anos). Quanto à sobrevida total e à sobrevida livre de doença, não houve diferença significativa. Com este resultado, concluímos que o PCNA não foi considerado fator prognóstico, em nossos casos, para pacientes com câncer de mama estágio clínico II.

Abstract

The purpose of this work was to study the proliferating cell nuclear antigen (PCNA) of women with breast cancer clinical stage II and correlate it with the patient's evolution. A retrospective study of 74 women from the mastology clinic at the São Francisco University Hospital in Bragança Paulista was carried out. These women were treated with surgery, and those who presented axillary lymphonodal involvement received adjuvant therapy with chemotherapy, radiotherapy and hormonotherapy. The average follow-up was 68.7 months and the average age was 53.1 years (range: 30-82 years old). Regarding the overall survival and disease-free survival there was no significant difference from these results. We concluded that the PCNA should not be considered a prognostic factor, in our cases, for patients with breast cancer clinical stage II.

Introdução

Atualmente o câncer de mama é um problema de saúde pública no Brasil⁽⁹⁾. Sua incidência aumenta lenta e progressivamente, atingindo, inclusive, as mulheres jovens. Para o ano de 2001 está prevista a ocorrência de cerca de 305.330 casos novos de câncer, com 117.550 óbitos. Destes, 154.880 no sexo feminino, dos quais 31.590 deverão ser de mama (36,4/100 mil mulheres), com 8.670 óbitos. No estado de São Paulo a incidência desta patologia é de 60,3/100 mil mulheres, sendo esperados 11.440 novos diagnósticos e 2.800 óbitos. Com estes números

constata-se que o carcinoma de mama é a principal causa de morte por neoplasia no sexo feminino, tanto no estado de São Paulo como no restante do Brasil⁽¹⁵⁾.

Vários fatores impedem seu diagnóstico precoce: a estrutura anatômica da mama, o pudor exagerado das mulheres mais idosas e o desconhecimento e o temor a respeito do assunto. Por tratar-se de doença com alto poder de metastatização, um número significativo de pacientes morre antes dos cinco anos de evolução, após o tratamento primário. É doença de evolução pouco previsível. Sua história natural e seu prognóstico variam muito e tumores muito pequenos (milimétricos) podem apresentar alto potencial metastático^(17, 18).

Unitermos

Imunoistoquímica
Câncer de mama
PCNA
Fator prognóstico

Key words

Immunohistochemistry
Breast cancer
PCNA
Prognostic factor

Aceito para publicação em novembro de 2002.

Universidade Estadual de Campinas. Estudo avaliado e aprovado pela Comissão de Pesquisa do Departamento de Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp e pelo Comitê de Ética da Universidade São Francisco, sendo cumpridos os termos da Resolução 196 do Conselho Nacional de Saúde.

Alguns fatores interferem na evolução do carcinoma, como, por exemplo: idade da paciente, volume tumoral, propagação às estruturas adjacentes (principalmente linfonodos), tipo histológico e receptor hormonal, fatores estes que permitem ao médico antever a possível evolução da doença e propor terapia adjuvante.

Os fatores prognósticos são os dados clínicos, anatomopatológicos e as características biológicas da paciente e seu tumor. Eles irão prever a evolução da doença, como, por exemplo, a probabilidade da recidiva local ou sobrevida da paciente quando não-tratada. Na prática, significa ausência de tratamento adjuvante adicional após a cirurgia inicial^(3, 20).

Deve-se, no entanto, conhecer novos fatores prognósticos para diminuir a propagação da doença através do tratamento sistêmico adjuvante, intervindo previamente, permitindo, assim, maior sobrevida sem doença⁽²¹⁾.

O carcinoma apresenta uma interação individualizada com a paciente e com o potencial de malignidade. Houve, nas últimas décadas, grande avanço nos métodos terapêuticos da neoplasia mamária, embora ela não tenha evolução igual para todas as mulheres. O estudo dos fatores prognósticos irá orientar na individualização da terapêutica a ser instituída em cada caso^(25, 26).

Os fatores prognósticos e preditivos são úteis nas seguintes situações:

- identificação da paciente cujo prognóstico é bom e para quem, após o tratamento cirúrgico inicial, a terapia adjuvante não trará maiores benefícios;
- identificação da paciente cujo prognóstico é ruim, onde tratamento mais agressivo se faz necessário;
- identificação das pacientes que são resistentes ou responsivas a determinadas formas de terapia⁽⁵⁾.

A fim de enquadrar as pacientes deste estudo em uma das situações acima descritas, serão estudados alguns fatores por elas apresentados, para individualizá-las na condição de risco para má evolução da doença e, assim, poder intervir preventivamente.

Portanto o fator prognóstico a ser estudado, por sua importância e pela fácil realização de seu estudo^(14, 22), será o fator de proliferação celular (PCNA).

A medida do tempo de duplicação tumoral mostra a agressividade do tumor e é diretamente proporcional à sobrevida da paciente. Gershon-Cohen, Berger e Klickstein (1963) descreveram pela primeira vez o tempo de duplicação dos tumores mamários. Este tempo variou de 23 a 209 dias. Mas como existem mulheres com tumores grandes e longa sobrevida, Denoix (1970) enfatizou que importante é o tempo que o tumor leva para chegar a determinado tamanho, e não o tempo e o tamanho isoladamente.

O PCNA é uma proteína DNA-polimerase, de 36kDa, que está presente nas células quando da replicação ou síntese de DNA. Aparece no núcleo na fase G1 tardia, aumenta durante a fase S e diminui na G2 e M, estando, portanto, correlacionada à proliferação celular^(7, 17, 19, 27).

Para sua coloração utiliza-se um anticorpo monoclonal, o PC 10, que reconhece o epítipo do PCNA humano^(1, 4, 7, 24, 27).

Tahan *et al.*⁽²⁷⁾ e Haerslev e Jacobsen⁽¹³⁾ relataram estar o alto índice de PCNA relacionado à piora na sobrevida e

ao curto período livre de doença, em comparação com o baixo índice, e esta diferença foi estatisticamente significativa. Relataram também que esta diferença só foi encontrada após cinco anos de seguimento. Outros autores⁽¹¹⁾ não chegaram à mesma conclusão, porém o seguimento foi de quatro anos. Cummings *et al.*⁽⁷⁾ estudaram 68 mulheres, com seguimento de cinco anos, e não encontraram resultado significativo quando avaliaram PCNA e sobrevida total, sobrevida livre de doença, comprometimento axilar, grau histológico e tamanho tumoral. Concluíram que o PCNA não deve ser usado ainda como marcador tumoral para câncer de mama.

Altos índices de PCNA relacionados com a pior sobrevida em mulheres com axila negativa e sem significância em mulheres com axila positiva foram encontrados por Schönborn *et al.*⁽²³⁾

Sheen-Chen *et al.*⁽²⁴⁾ chegaram à conclusão de que o PCNA era bom fator prognóstico para câncer de mama em mulheres com axila positiva. No entanto Agarwal *et al.*⁽¹⁾ não encontraram relação entre PCNA e comprometimento axilar.

Mulheres com axila negativa sem terapia adjuvante após cirurgia foram estudadas por Bianchi *et al.*⁽⁴⁾, que concluíram ser o PCNA um bom método prognóstico, mas que deve ser associado a outro fator e não deve ser utilizado sozinho.

A avaliação da possível resposta das pacientes ao câncer de mama é importante para se planejar o tratamento ideal. Um só fator prognóstico não pode determinar todo o *status* da paciente; o médico deve considerar todos os fatores⁽²⁴⁾. Neste trabalho serão estudados alguns deles, na esperança de encontrar os que possam ajudar na decisão do tratamento.

Muitas decisões terapêuticas adjuvantes são tomadas tendo-se em vista o estadiamento clínico (tamanho tumoral e envolvimento axilar). No entanto aproximadamente 30% das mulheres cujo tumor não apresenta comprometimento axilar dentro dos primeiros cinco anos de seguimento irão apresentar recorrência da doença. Com base nisso, é imperativo haver outros fatores prognósticos que orientem para a realização de uma terapia adjuvante nessas mulheres e, assim, evitar tais recidivas.

O estágio clínico II foi estudado por ser encontrado com mais frequência no Serviço de Mastologia do Hospital Universitário São Francisco e em outros serviços de atendimento a tumores.

A maior incidência do câncer de mama em nosso meio se apresenta no estágio clínico II e, como apresenta uma evolução diferente para pacientes em um mesmo estágio, serão estudados os fatores já relatados, para compará-los com a evolução das pacientes, analisando, deste modo, sua influência no decorrer do tempo, sua interação com a patologia, verificando se interferem na sobrevida total e na sobrevida livre de doença. Assim, será possível identificar qual paciente irá se beneficiar com um tratamento mais agressivo, e o mesmo poderá ser feito precocemente, evitando, assim, uma recidiva da doença.

Objetivo

Avaliar a relação entre o fator prognóstico imunoistoquímico PCNA e a evolução clínica das pacientes portadoras de carcinoma ductal de mama estágio clínico II.

Sujeitos e métodos

Foram avaliadas, retrospectivamente, 74 pacientes portadoras de câncer de mama estágio clínico II com tipo histológico de carcinoma ductal invasivo sem outras especificações, diagnosticadas e tratadas no período de janeiro de 1984 a fevereiro de 1998, oriundas do Serviço de Mastologia do Hospital Universitário São Francisco, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de São Francisco, de Bragança Paulista.

Em dezembro de 2000, quando foi encerrada a coleta de dados, as pacientes estavam nas seguintes condições:

- 29 vivas sem doença (39,2%);
- 8 vivas com doença (10,8%);
- 22 óbitos (29,7%);
- perda de seguimento em 15 casos (20,3%).

A sobrevida foi avaliada em meses. Para as que faleceram, foi contado o tempo decorrido da cirurgia até o momento da morte. Para as vivas, com ou sem doença, o dado foi censurado em dezembro de 2000. Para as que apresentaram perda de seguimento, a censura foi a data da última consulta.

As pacientes foram avaliadas segundo a presença de PCNA. Este exame foi realizado no Laboratório de Patologia Experimental da Unicamp. O estudo foi efetuado em blocos de parafina, do qual foram retirados cortes de espessura de 4µm a 6µm, montados em lâminas de vidro e corados seguindo a técnica de imunoperoxidase.

Para o PCNA utilizou-se anticorpo monoclonal, clone PC10, M879 Dako, na diluição de 1:150 (marcador nuclear). Classificado em + quando apresenta até 25% de positividade, ++ de 26% a 50%, +++ de 51% a 75% e ++++ de 76% a 100%⁽¹⁰⁾.

Crítérios de seleção e exclusão de pacientes

As pacientes selecionadas foram as portadoras de câncer de mama estágio clínico II, diagnosticadas

histologicamente e estadiadas segundo classificação internacional da União Internacional Contra o Câncer (UICC)⁽²⁸⁾. Os demais estadiamentos foram excluídos.

Desenho do estudo

O estudo foi descritivo, observacional e retrospectivo.

Variáveis

Fator de proliferação celular (PCNA). Dividido em quatro categorias: + até 25%, ++ de 26% a 50%, +++ de 51% a 75% e ++++ de 76% a 100% de positividade. Este fator foi avaliado seguindo-se a técnica de imunoperoxidase nos blocos de parafina dos tumores das mulheres tratadas de câncer de mama estágio clínico II estudadas neste trabalho.

Análise estatística

O teste exato de Fisher e o teste qui-quadrado, quando adequados, foram utilizados para experimentar a associação entre as variáveis independentes e a associação de cada variável independente com o evento óbito ou recidiva⁽²⁾.

As curvas de sobrevida, estimadas pelo método de Kaplan-Meier (KM), foram utilizadas para descrever as proporções acumuladas de óbitos (sobrevida total) e de recidivas (sobrevida livre de doença), conforme o tempo de acompanhamento das pacientes. Estas curvas foram construídas em algumas situações distintas, conforme categorizações das variáveis independentes, e posteriormente comparadas através do teste de Wilcoxon⁽⁶⁾.

Em todos os testes estatísticos de hipóteses considerados neste trabalho obtiveram-se como significantes os resultados associados a um p com valor menor que 5%.

Resultados

O tempo de seguimento médio das mulheres desde o tratamento inicial (cirurgia) até o evento – óbito, perda de seguimento ou censura por interrupção do tempo para análise do estudo (dezembro 2000) – foi de 68,7 meses (variando de oito a 196 meses). O período livre de doença foi de 58,1 meses (variando de três a 196 meses). Na **Tabela 1** pode-se observar a distribuição destas mulheres, e, na **Tabela 2**, a distribuição das mulheres segundo o índice de proliferação celular.

Tabela 1 – Tempo de evolução das mulheres segundo sobrevida e período livre de doença

	Sobrevida (em meses)	PLD (em meses)
Vivas sem doença ($n = 29$)	86,9	–
Vivas com doença ($n = 8$)	81,7	40,5
Óbito ($n = 22$)	57,5	41,3
Perda de seguimento ($n = 15$)	42,9	36,3

PLD = período livre de doença.

Tabela 2 – Distribuição das mulheres segundo o índice de proliferação celular

PCNA	n	%
+	4	5,4
++	20	27
+++	40	54,1
++++	10	13,5
Total	74	100

A **Tabela 3** mostra que existe significância entre grau de diferenciação tumoral e PCNA (quanto mais diferenciado o tumor, menor a positividade para o PCNA).

O PCNA não mostrou ser significativo para a sobrevida total e a sobrevida livre de doença (**Figuras 1 e 2**).

Discussão

O câncer de mama é uma doença crônica, de evolução imprevisível, variando muito seu comportamento entre as mulheres, mesmo quando pareadas segundo parâmetros clínicos de maior importância.

Algumas vezes tumores grandes evoluem bem, ao passo que tumores milimétricos podem evoluir

rapidamente, com óbito precoce. O seu controle pode ser hormônio e/ou quimioterápico, porém a grande maioria das mulheres portadoras de câncer de mama irá, provavelmente, morrer em decorrência da evolução desta patologia.

O prognóstico destas mulheres tem sido determinado por alguns aspectos patológicos bem estabelecidos, como grau de diferenciação tumoral, tamanho do tumor e envolvimento axilar. O mais confiável deles, isoladamente, é o comprometimento linfonodal. As pacientes com axila negativa têm um baixo risco de recorrência da doença; entretanto, aproximadamente 30% delas, após aparente cura cirúrgica, irão apresentar doença em evolução. A quimioterapia adjuvante pode reduzir consideravelmente este risco; no entanto não é um tratamento inócuo. Tendo isto como certo, procura-se identificar alguns fatores que possam indicar quem irá se beneficiar com o tratamento preventivo (adjuvante).

Recentemente muitos outros parâmetros moleculares têm sido estudados como fatores prognósticos, incluindo genes oncosuppressores e proto-oncogenes.

Neste trabalho procuramos avaliar um parâmetro cujo valor prognóstico e preditivo é ainda conflitante, o PCNA.

Houve uma relação significativa de tumores PCNA baixo (+/++) com G1, sendo o mesmo encontrado por Kesari *et al.*⁽¹⁷⁾ e Kesari *et al.*⁽¹⁸⁾.

TAHAN *et al.*⁽²⁷⁾, Haerslev e Jacobsen⁽¹³⁾ e Kesari *et al.*⁽¹⁷⁾ relacionaram o PCNA elevado com pior sobrevida total e curta sobrevida livre de doença. Cummings *et al.*⁽⁷⁾ não o relacionaram com sobrevida total e sobrevida

Tabela 3 – Correlação entre PCNA e as diversas variáveis

Variáveis	PCNA				p
	+/++		+++ /++++		
	n	%	n	%	
Menopausa					
Sim	13	54,2	32	64	0,45*
Não	11	45,8	18	36	
Grau de diferenciação tumoral					
I	8	33,3	2	4	< 0,01*
II	14	58,4	33	66	
III	2	8,3	15	30	
Axila					
0	8	33,3	20	40	0,93*
1 a 3	7	29,2	13	26	
4 a 9	6	25	10	20	
10 ou +	3	12,5	7	14	
Total	24	100	50	100	

*Teste qui-quadrado; **teste exato de Fisher.

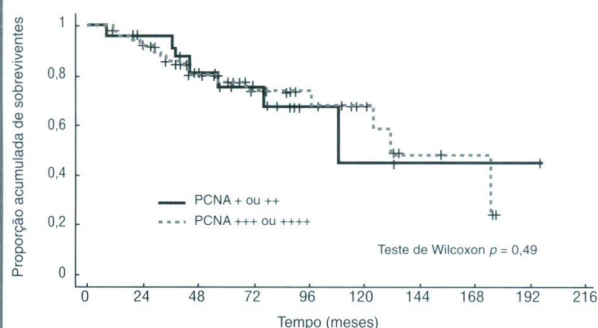


Figura 1: Taxa de sobrevida total segundo a expressão do PCNA

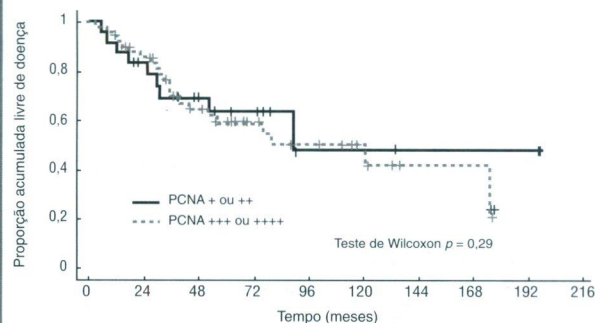


Figura 2: Taxa de sobrevida livre de doença segundo a expressão do PCNA

livre de doença e concluíram que não deve ser usado como marcador tumoral para câncer de mama.

Bianchi *et al.*⁽⁴⁾ afirmaram que o PCNA tem valor prognóstico para pacientes axilo-negativas, mas não o suficiente para ser utilizado na prática como único fator.

Cummings *et al.*⁽⁷⁾, Haerslev e Jacobsen⁽¹³⁾, Kemp⁽¹⁶⁾, Schönborn *et al.*⁽²³⁾ e Agarwal *et al.*⁽¹⁾ concluíram em seus trabalhos que o PCNA é encontrado com níveis elevados (maior de 50%) nos tumores pouco diferenciados (GIII), distinguindo um grupo de mulheres de alto risco, sendo isto mais importante nas pacientes axilo-negativas, demonstrando ser, portanto, um bom fator prognóstico para axila negativa.

Sheen-Chen *et al.*⁽²⁴⁾ chegaram à conclusão de que o PCNA é um bom fator prognóstico para câncer de mama axilo-positivo, enquanto Cummings *et al.*⁽⁷⁾ e Agarwal *et al.*⁽¹⁾ não encontraram relação entre PCNA e o comprometimento axilar, o mesmo ocorrendo aqui.

As curvas de KM para sobrevida total e sobrevida livre de doença foram não-significativas, não concordando com os resultados de Tahan *et al.*⁽²⁷⁾, Haerslev e Jacobsen⁽¹³⁾ e Schönborn⁽²³⁾.

As mulheres deste estudo, com PCNA elevado, acima de 50% (+++/++++), receberam tratamento complementar em 68% dos casos.

Lampe *et al.* (1998) não encontraram relação entre recorrência da doença e PCNA, não considerando este um fator prognóstico para câncer de mama.

Em nosso estudo o tratamento complementar rádio e/ou quimioterápico foi indicado com base somente na avaliação histológica da axila, não tendo sido nenhum outro fator levado em consideração.

Conclusões

O PCNA não foi considerado fator prognóstico para carcinoma de mama estágio clínico II nas mulheres deste estudo.

O PCNA não mostrou diferença quanto à sobrevida total e à sobrevida livre de doença. Foi significativo para o grau do tumor (GI e PCNA baixo, GIII e PCNA elevado).

Referências bibliográficas

1. AGARWAL S, JAIN R, RUSIA U, GUPTA, RL. Proliferating cell nuclear antigen immunostaining in breast carcinoma and its relationship to clinical and pathological variables. *Indian J Pathol Microbiol* 1997; 40: 11-6.
2. AGRESTI A. Categorical data analysis. New York: Editora John Wiley. 1990; 576.
3. ALLRED DG, HARVEY JM, BERARDO M, CLARK GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol* 1998; 11: 155-68.
4. BIANCHI S, PAGLIERANI M, ZAMPI G *et al.* Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen in lymph node negative breast cancer patients. *Cancer* 1993; 72: 120-5.
5. CLARK GM. Do we really need prognostic factors for breast cancer? *Breast Cancer Res Treat* 1994; 30: 117-26.
6. COLLETT D. Modelling survival data in medical research. Editora Chapman & Hall. 1994; 384.
7. CUMMINGS MC, FURNIVAL CM, PARSONS PG, TOWNSEND E. PCNA immunostaining in breast cancer. *Aust N Z J Surg* 1993; 63: 630-6.
8. DENOIX P. New trends in the diagnosis and treatment of cancer. *Rer Inst Nac Cancerol* 1970; 22: 674-80.
9. GADELHA MIP, SALTZ E, REZENDE MCR, PINHEIRO LR. Câncer: um problema de saúde pública no Brasil. *JBM* 1992; 63: 38-45.
10. GARCIA RL, COLTRERA MD, GOWN AM. Analysis of proliferative grade using anti PCNA/cyclin monoclonal antibodies in fixed, embedded tissues. *Am J Pathol* 1989; 134: 733-9.
11. GASPARINI S, MELI S, POZZA S, CAZZAVILLAN S, BELIACQUA P. PC-10 antibody to proliferating cell nuclear antigen (PCNA) is not related to prognosis in human breast carcinomas. *Growth Reg* 1992; 2: 145-50.
12. GERSHON-COHEN J, BERGER SM, KLICKSTEIN HS. Roentgenography of breast cancer moderating concept of "biologic predeterminism". *Cancer* 1963; 16: 961-4.
13. HAERSLEV TH, JACOBSEN GK. Proliferating cell nuclear antigen in breast carcinomas: an immunohistochemical study with correlation to histopathological features

- and prognostic factors. *Virchows Archiv* 1994; 424: 39-46.
14. HERCHENHORN D, REZENDE LM, THULER LC, MAIA RC, MEDINA M, COSTA MDC. Quimioterapia neo-adjuvante em câncer de mama localmente avançado: análise imunoistoquímica é preditiva da resposta à quimioterapia. *Rev Bras Cancerol* 2000; 46: 163-71.
 15. INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CâNCER. Ministério da Saúde. Estimativas da incidência e mortalidade por câncer no Brasil. [2001 julho 25]. Disponível em: <<http://www.inca.org.br>>.
 16. KEMP C. Valor prognóstico do antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA/ciclina) em pacientes com câncer de mama (T2 N0,1 M0). São Paulo: 1995. Tese de Doutorado, Unifesp/EPM.
 17. KESARI AL, CHELLAM VG, NAIR PP *et al*. Tumor proliferative fraction in infiltrating duct carcinoma. *Gen Diagn Pathol* 1997; 143: 219-24.
 18. KESARI AL, CHELLAM VG, NAIR PP *et al*. p53 tumor suppressor protein and tissue proliferative fraction in infiltrating duct carcinoma. *J Surg Oncol* 1997; 65: 159-63.
 19. MATHEWS MB, BERNSTEIN RM, FRANZA Jr BR, GARRELS JI. Identity of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin. *Nature* 1984; 309: 374-6.
 20. PUGLISI F, DI LORETO C, BELTRAMI CA. Fattori prognostico-predittivi e scelte terapeutiche nel carcinoma invasivo della mammella. *Ann Ital Chir* 1999; 3: 335-41.
 21. SANTINHO MJ, SOUZA AZ, FARIA RM, SALVATORE CA. Aspectos imunoistológicos e prognósticos do carcinoma da mama. *Ginecol Obstet Bras* 1982; 5: 307-25.
 22. SCHMITT FC. Marcadores prognósticos em carcinoma mamário. In: Alves VAF, Bacchi CE, Vassalo J. (eds.). *Manual de imunoistoquímica*. Sociedade Brasileira de Patologia; 1999; 30-46.
 23. SCHÖNBORN I, ZSCHIESCHE W, MINGUILLON C. *et al*. Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen and c-erbB-2 compared with conventional histopathological factors in breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 1995; 121: 115-22.
 24. SHEEN-CHEN SM, ENG HL, CHOU FF, CHEN WJ. The prognostic significance of Proliferating Cell Nuclear Antigen in patients with lymph node positive breast cancer. *Arch Surg* 1997; 132: 264-7.
 25. SILVA HMS, COELHO Jr JL. Fatores aplicações clínicas. *J Bras Ginec* 1987; 97: 371-4.
 26. SILVA HMS, COELHO Jr JL, VIANNA LL *et al*. Fatores prognósticos: estudo em 90 casos de câncer de mama. *J Bras Ginec* 1991; 101: 109-13.
 27. TAHAN SR, NEUBERG DS, DIEFFENBACH A, YACOB L. Prediction of early relapse and shortened survival in patients with breast cancer by proliferating cell nuclear antigen score. *Cancer* 1993; 71: 3552-9.
 28. UICC - UNIÃO INTERNACIONAL CONTRA O CâNCER. *TNM Classification of malignant tumors*. 4 ed., Springer Verlag. 1987.

Endereço para correspondência

Olavo Pedroso Cezar Junior
Rua Aquidaban 568
CEP 12914-270 - Bragança Paulista-SP
Tel: (11) 4033-2287
e-mail: opcj@dglnet.com.br