

Um estudo da expressão de marcadores imunoistoquímicos (receptor de estrogênio, P53 E HER-2) e fatores anatomoclínicos de câncer de mama em pacientes axila-negativas

Gilberto Uemura
Laurival A. De Luca
José Ricardo P. Rodrigues
Heloísa M. Vespoli
Lídia Raquel de Carvalho
Paulo Traiman

Node negative breast cancer: evaluation of prognostic factors and immunohistochemical markers (estrogen receptor, P53 and HER-2)

Resumo

Os aspectos heterogêneos do câncer de mama, associados ao mau prognóstico, têm incentivado a identificação de fatores que permitam a melhor compreensão do seu comportamento biológico. Estes fatores podem ser divididos em anatomopatológicos e biológicos. Em pacientes axila-negativas os objetivos foram: estudar a expressão do oncogene HER-2, do gene supressor P53 e correlacioná-los com a expressão dos receptores de estrogênio e com os fatores anatomoclínicos. Analisamos, retrospectivamente, 54 pacientes axila-negativas com câncer de mama através de dados anatomoclínicos e avaliamos o tumor por técnicas imunoistoquímicas, correlacionando-o à expressão do receptor de estrogênio, do oncogene HER-2 e do gene supressor P53. Obtivemos correlações significativas entre diversos parâmetros anatomoclínicos. Em relação a período livre de doença e sobrevida global houve associações significativas entre: período livre de doença (PLD) e grau histológico, PLD e incidência de metástases, PLD e expressão do gene supressor P53, sobrevida e tamanho do tumor e sobrevida e incidência de metástases. A expressão do gene supressor P53 associou-se à negatividade do receptor de estrogênio e ao menor período livre de doença, enquanto a expressão do oncogene HER-2 revelou-se sem valor prognóstico. Entre os fatores de prognóstico estudados, os parâmetros anatomoclínicos são mais relevantes.

Abstract

High incidence, devastating consequences on mental and organic health and high mortality rates characterize breast cancer as a serious world health problem. The heterogeneous aspects of the disease associated with poor prognosis have encouraged the study of pathological and biological factors which allow us to understand the behavior of breast cancer better. Node-negative breast cancer patients have presented a higher overall survival rates when compared to node-positive patients. However, approximately 30% of node-negative patients have presented worse prognosis associated with cancer recurrence. Fifty-four node-negative patients have been retrospectively evaluated for clinical and pathological data and correlated to estrogen receptor, tumor suppressor gene P53 and oncogene HER-2 expression. The average age of the women was 57 years (range 25-80) and the average tumor size was 3.42 cm (range 1-20). Associations between several anatomic, pathological and immunohistochemical factors have been analyzed and statistical significance was observed between tumor size and mortality, tumor size and incidence of metastasis, histological grade and estrogen receptor expression, tumor suppressor gene P53 expression and estrogen receptor expression, disease free survival (DFS) and histological grade, DFS and incidence of metastasis, DFS and P53 expression, overall survival and tumor size, and overall survival and incidence of metastasis.

Unitermos

Câncer de mama
Fatores prognósticos
Fatores preditivos
Oncogene HER-2
Gene supressor P53

Key words

Breast cancer
Node negative
Prognostic factors
Oncogene HER-2
Suppressor gene P53

Aceito para publicação em janeiro de 2003.

Centro de Avaliação em Mastologia da Faculdade de Medicina de Botucatu. Instituto de Bioestatística da Faculdade de Medicina de Botucatu/Unesp.
Trabalho realizado no Centro de Avaliação em Mastologia Prof. Laurival A. De Luca, da Faculdade de Medicina de Botucatu/Unesp.

Introdução

Em países evoluídos, somente 30% das portadoras de câncer de mama têm metástases em linfonodos axilares, resultados conferidos pelos programas educacionais e pela detecção precoce por mamografia⁽¹⁾. Entre as pacientes axila-negativas, 70% alcançaram dez anos de sobrevida. Das restantes, 6% a 7% são beneficiadas com a quimioterapia adjuvante, enquanto as demais falecem devido à doença metastática⁽²⁾. Portanto a seleção das axila-negativas com alto risco para recidivas ou metástases é interessante porque este grupo deve beneficiar-se com a quimioterapia adjuvante. Quanto às de baixo risco, estariam dispensadas deste tratamento.

Os objetivos específicos desta investigação incluem o estudo e a associação entre os fatores anatomoclinicos em portadoras de carcinoma ductal invasivo (CDI) axila-negativo e a expressão do receptor de estrogênio (RE), do oncogene c-erbB-2 e do gene supressor P53.

Metodologia

Selecionamos 54 pacientes portadoras de CDI axila-negativo. Todas foram submetidas a um dos seguintes tratamentos cirúrgicos: mastectomia radical, mastectomia sub-radical e quadrantectomia com linfadenectomia axilar em três níveis. Radioterapia pós-operatória na dose de 5.000cGy foi empregada em 52 pacientes. A quimioterapia e o uso de tamoxifeno ficaram reservados às pacientes que apresentaram metástases durante o seguimento.

O volume do tumor foi medido a partir dos laudos anatomopatológicos, utilizando-se três subgrupos do diâmetro segundo a classificação TNM. T₁, menor que 2cm; T₂, entre 2cm e 5cm; e T₃, acima de 5cm.

Os tumores foram histologicamente graduados de acordo com Bloom Richardson⁽³⁾.

O método imunistoquímico foi utilizado para identificação dos RE, do oncogene c-erbB-2 e do gene supressor P53.

Análise estatística

Estudou-se a associação entre os diversos parâmetros: volume do tumor, grau histológico, expressão de RE, c-erbB-2, P53, incidência de recidivas, de metástases e de mortalidade, utilizando-se os testes de exato de Fischer. Na análise de sobrevivência empregamos o estimador de Kaplan-Meier e os testes Log-Rank. Ajustamos também o modelo de risco proporcional de Cox. O nível de significância foi de 5%.

Resultados

Os resultados estão expressos nas **Tabelas 1 a 10**.

Período livre de doença (PLD) e sobrevida

O PLD variou entre sete e 192 meses (média de 89,7 meses), e a sobrevida, entre 13 e 192 meses (média de 96,6 meses).

Idade e volume do tumor

A idade variou entre 25 e 80 anos (média de 57 anos), e volume do tumor, entre 1cm e 20cm (com média de 3,42cm).

Tabela 1

Diâmetro do tumor	Número de pacientes
T ₁	8 (14,8%)
T ₂	38 (70,4%)
T ₃	8 (14,8%)
Total	54 (100%)

Tabela 2

Grau histológico	Número de pacientes
1	13 (24,1%)
2	30 (55,5%)
3	11 (20,4%)
Total	54 (100%)

Tabela 3

Expressão de RE	Número de pacientes
Positiva	38 (70,4%)
Negativa	16 (29,6%)
Total	54 (100%)

Tabela 4

Expressão de c-erbB-2	Número de pacientes
Positiva	12 (22,2%)
Negativa	42 (77,8%)
Total	54 (100%)

Tabela 7

Metástases	Número de pacientes
Ausentes	37 (68,5%)
Presentes	14 (25,9%)
Sem dados	3 (5,6%)

Tabela 5

Expressão de P53	Número de pacientes
Positiva	25 (46,2%)
Negativa	28 (51,8%)
Inconclusiva	1 (2%)
Total	54 (100%)

Tabela 8

Localização das metástases	Número de pacientes
Pulmão	4 (7,4%)
Fígado	3 (5,55%)
Ossos	3 (5,55%)
Pulmões e fígado	2 (3,7%)
Pulmões, fígado e ossos	2 (3,7%)
Total	14 (25,9%)

Tabela 6

Recidivas locorregionais	Número de pacientes
Ausente	47 (87%)
Presente	4 (7,4%)
Sem dados	3 (5,6%)
Total	54 (100%)

Tabela 9 – Incidência de mortalidade

Óbito	13 (24,1%)
Vivas	38 (70,35%)
Sem dados	3 (5,55%)

A análise do PLD e da sobrevida com parâmetros associados e que apresentaram significado estatístico encontra-se nas **Figuras 1 a 5**.

Discussão

Mesmo levando-se em consideração o pequeno número de casos estudados, os resultados obtidos sugerem que, no estado atual do nosso conhecimento, as variáveis anatomoclínicas (comprometimento da axila, tamanho do tumor e grau histológico) ainda superam os marcadores tumorais como fatores prognósticos⁽⁴⁾. Esta investigação buscou a correlação entre estes fatores em pacientes axila-negativas que tiveram seguimento de pelo menos cinco anos. Em análise anterior⁽⁵⁾ do valor prog-

nóstico do receptor de estrogênio, verificamos que sua positividade se associou a maior período livre de doença em mulheres com câncer de mama axila-negativas. Neste trabalho procuramos correlacionar este receptor com outros marcadores tumorais. A literatura sempre é controversa quanto à importância prognóstica do RE em axilas-negativas⁽⁶⁾.

As recentes publicações confirmam, infelizmente, a discutível correlação entre RE, gene supressor P53 e oncogene c-erbB-2⁽⁷⁾. Em verdade, estudos recentes comprovam que os fatores anatomoclínicos preponderam sobre marcadores biológicos no prognóstico do câncer de mama sem comprometimento axilar⁽⁸⁾.

A utilização de metodologias variáveis, as diferentes amostras de pacientes estudadas e os poucos conhecimentos científicos respondem pelos divergentes resultados entre vários autores⁽⁹⁾. Enquanto a engenharia

Tabela 10 – Associação entre os diversos parâmetros e significado estatístico

Associação entre variáveis	Nível de significância
Tamanho do tumor x Receptor de estrogênio	$p > 0,05$
Tamanho do tumor x Expressão de c-erbB-2	$p > 0,05$
Tamanho do tumor x Expressão de P53	$p > 0,05$
Tamanho do tumor x Grau histológico	$p > 0,05$
Tamanho do tumor x Recidiva locorregional	$p > 0,05$
Tamanho do tumor x Metástases	$p < 0,05^*$
Tamanho do tumor x Incidência de mortalidade	$p < 0,05^*$
Grau histológico x Receptor de estrogênio	$p < 0,05^*$
Grau histológico x Expressão do c-erbB-2	$p > 0,05$
Grau histológico x Expressão do P53	$p > 0,05$
Grau histológico x Metástases	$p > 0,05$
Grau histológico x Recidiva locorregional	$p > 0,05$
Grau histológico x Incidência de mortalidade	$p > 0,05$
Receptor de estrogênio x Expressão do c-erbB-2	$p > 0,05$
Receptor de estrogênio x Expressão do P53	$p < 0,05^*$
Receptor de estrogênio x Recidiva locorregional	$p > 0,05$
Receptor de estrogênio x Metástases	$p > 0,05$
Expressão do c-erbB-2 x Expressão do P53	$p > 0,05$
Expressão do c-erbB-2 x Recidiva locorregional	$p > 0,05$
Expressão do c-erbB-2 x Metástases	$p > 0,05$
Expressão do c-erbB-2 x Incidência de mortalidade	$p > 0,05$
Expressão do P53 x Recidiva locorregional	$p > 0,05$
Expressão do P53 x Metástases	$p > 0,05$
Expressão do P53 x Incidência de mortalidade	$p > 0,05$
Recidiva locorregional x Incidência de mortalidade	$p < 0,05^*$
Recidiva locorregional x Metástases	$p < 0,05^*$

*Significativo

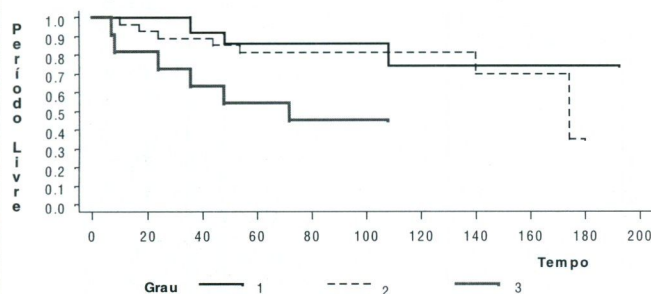


Figura 1: Período livre de doença x grau histológico ($p < 0,05$)

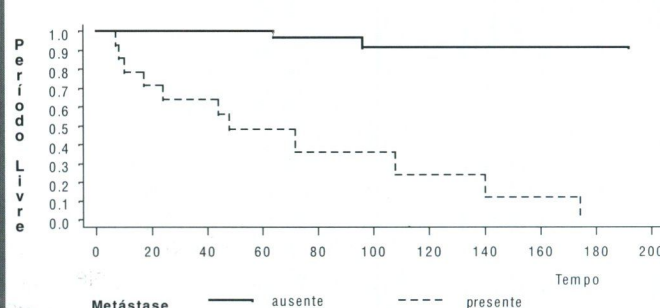


Figura 2: Período livre de doença x metástase ($p < 0,05$)

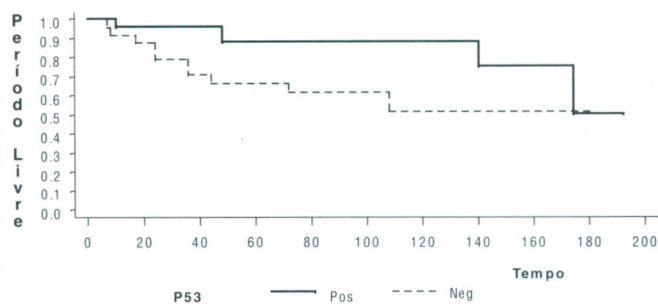


Figura 3: Período livre de doença x expressão de P53 ($p < 0,05$)

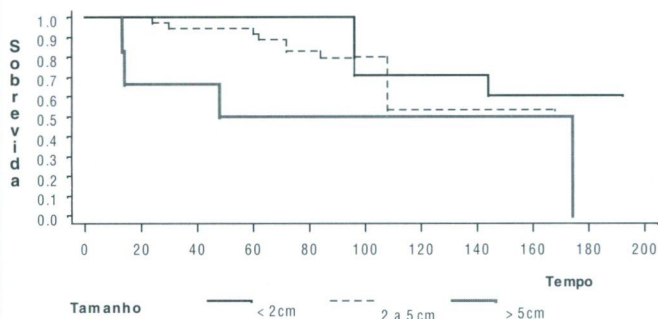


Figura 4: Sobrevida x tamanho do tumor ($p < 0,05$)

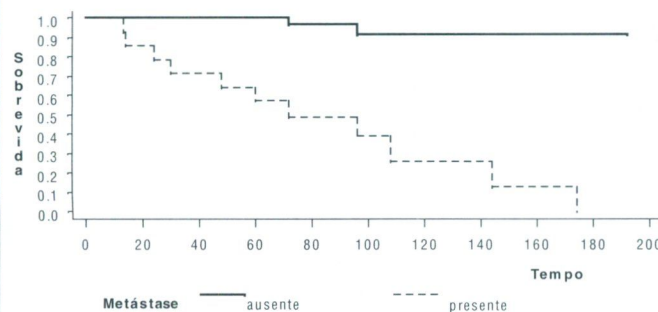


Figura 5: Sobrevida x incidência de metástase ($p < 0,05$)

biomolecular não atingir patamares aplicáveis à clínica, não será possível estabelecer regras que definam quais dos marcadores biológicos poderão ser diretamente relacionados ao prognóstico. Admitimos, considerando o volume das investigações biomoleculares, que a médio prazo teremos resposta para muitas indagações. Entretanto discreto progresso já foi alcançado ao verificarmos que os RE e o oncogene c-erbB-2 são notórios elementos imunistoquímicos que permitem prever, respectivamente, a resposta à endocrinoterapia e ao tratamento imunogenético.

Voltando à análise de nossos resultados, confirmamos associações reconhecidas: em mulheres axila-negativas o tamanho do tumor está associado a maior incidência de metástases. Também as recidivas locorregionais se associaram a maior incidência de metástases e de mortalidade. Como esperado, os carcinomas de mama RE positivos se associaram a menor grau histológico, em consonância com outros autores^(10, 11). A expressão da positividade do gene supressor P53 se associou a menor período livre de doença^(12, 14), bem como a negatividade dos RE^(15, 17). Nesta investigação encontramos correlação positiva entre estes dois marcadores. Estribados nestes resultados e no seguimento de nossas pacientes, sugerimos que as portadoras de câncer de mama com RE negativos e gene supressor P53 positivos têm pior prognóstico. Encontramos respaldo em alguns trabalhos da literatura^(14, 15).

Por outro lado, em relação à expressão do oncogene c-erbB-2, não encontramos correlação significativa entre este marcador e o grau histológico, o tamanho do tumor, a incidência de recidivas locorregionais, metástases e sobrevida global, o que está de acordo com a maioria dos trabalhos da literatura^(18, 20). Em outras palavras, considerando esta investigação e a opinião da maioria dos autores, pelo menos em pacientes sem comprometimento axilar, a negatividade ou positividade do oncogene c-erbB-2 tem interesse prognóstico menor. A situação é diferente quando há comprometimento axilar. Embora este grupo de pacientes não faça parte da amostra que estudamos, vale salientar que nestes casos a expressão do c-erbB-2 tem maior valor prognóstico⁽¹⁹⁾.

O grau histológico de tumor maligno, de maneira geral, é considerado fator independente de prognóstico⁽³⁾. Por sinal, este estudo demonstrou que a maioria das pacientes RE negativas tem neoplasias com maior grau histológico ($p < 0,05$). Assim, a associação de tumores indiferenciados negativos para RE tende a menor período livre de doença e maior mortalidade^(9, 11). No entanto, talvez devido à pequena amostra, não logramos associar o grau histológico com os marcadores tumorais c-erbB-2 e P53 ($p > 0,05$). Mas o grau histológico correlacionou-se ao menor período livre de doença ($p < 0,05$). A expressão positiva e simultânea do oncogene c-erbB-2 e do gene supressor P53 não se revelou significativa, ao contrário do revelado em outros estudos⁽²¹⁻²³⁾.

Sugerimos que as portadoras de câncer de mama com tumor pequeno têm prognóstico mais favorável, independente do grau histológico, enquanto as de alto grau histológico e RE negativo têm pior prognóstico. Comprovamos que a associação de tumores maiores que 2cm, de alto grau histológico, RE negativo e P53 positivo, mesmo com axila negativa, tem pior prognóstico. Nossos resultados evidenciam a relativa importância do gene supressor P53 e as inconsistentes informações auferidas da identificação do oncogene c-erbB-2. Outrossim, confirmamos o valor dos fatores anatomoclínicos. Em que pese a pequena casuística, temos a nosso favor que os resultados obtidos estão relacionados a seguimento razoável de no mínimo cinco anos.

Referências bibliográficas

1. GASPARINI G, POZZA F, HARRIS AL. Evaluating the potential usefulness of new prognostic and predictive indicators in node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1206-19.
2. WEIDNER N. Prognostic factors in breast carcinoma. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 1995; 7: 4-9.
3. BLOOM HJG, RICHARDSON WW. Histologic grading and prognosis in breast cancer: A study of 1.709 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer* 1957; 2: 353-77.
4. MIRZA AN, MIRZA NQ, VLASTOS G, SINGLETARY SE. Prognostic factors in node-negative breast cancer: a review of studies with sample size more than 200 and follow-up more than 5 years. *Ann Surg* 2002; 235: 10-26.
5. UEMURA G. Estudo anatomoclínico do carcinoma ductal invasivo em pacientes axila-negativas associado à identificação dos receptores de estrogênio. [dissertação] Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 1998.
6. CORADINI D, DAIDONE MG, BORACCHI P *et al.* Time-dependent relevance of steroid receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2702-9.
7. HAMILTON A, PICCART M. The contribution of molecular markers to the prediction of response in the treatment of breast cancer: a review of the literature on HER-2, p53 and BCL-2. *Ann Oncol* 2000; 11: 647-63.
8. VOLPI A, DE PAOLA F, NANNI O *et al.* Prognostic significance of biologic markers in node-negative breast cancer patients: a prospective study. *Breast Cancer Res Treat* 2000; 63: 181-92.
9. EISENBERG AL, KOIFMAN S. Marcadores tumorais. *Revista Brasileira de Cancerologia* 2001; 47: 377-88.
10. ANDERSON WF, CHU KC, CHATTERJEE N, BRAWLEY O, BRINTON LA. Tumor variants by hormone receptor expression in white patients with node-negative breast cancer from the surveillance, epidemiology, and end results database. *J Clin Oncol* 2001; 19: 18-27.
11. EISENBERG ALA, KOIFMAN S, REZENDE LMMC. Receptores hormonais: associação com fatores prognósticos para câncer de mama. *Revista Brasileira de Cancerologia* 2001; 47: 49-58.
12. JANSSEN T, INGANAS M, SJOGREN S *et al.* P53 status predicts survival in breast cancer patients treated with or without postoperative radiotherapy: a novel hypothesis based on clinical findings. *J Clin Oncol* 1995; 13: 2745-51.
13. NOGUCHI S, KOYAMA H, KASUGAI T *et al.* The possible prognostic significance of P53 immunostaining status of the primary tumor in patients developing local recurrence after breast-conserving surgery. *Oncology* 1998; 55: 450-5.
14. OVERGAARD J, YILMAZ M, GULDBERG P, HANSEN LL, ALSNER J. TP53 mutation is an independent prognostic marker for poor outcome in both node-negative and node-positive breast cancer. *Acta Oncol* 2000; 39: 327-33.
15. FERRERO JM, RAMAIOLI A, FORMENTO JL *et al.* P53 determination alongside classical prognostic factors in node-negative breast cancer: an evaluation at more than 10-year follow-up. *Ann Oncol* 2000; 11: 393-7.
16. IOAKIM-LIOSSI A, KARAKITSOS P, MARKOPOULOS C *et al.* P53 protein expression and estrogen and progesterone receptor status in invasive ductal breast carcinomas. *Cytopathology* 2001; 12: 197-202.
17. ZHENG WQ, LU J, ZHENG JM, HU FX, NI CR. Variation of ER status between primary and metastatic breast cancer and relationship to P53 expression. *Steroids* 2001; 66: 905-10.
18. QUENEL N, WAFFLART J, BONICHON F *et al.* The prognostic value of c-erbB2 in primary breast carcinomas: a study on 942 cases. *Breast Cancer Res Treat* 1995; 35: 283-91.
19. KORKOLIS D, ARDAVANIS A, YOTIS J, KYROUDI A, GORGOLIS V, KITTAS C. HER-2/neu overexpression in breast cancer: an immunohistochemical study including correlations with clinicopathologic parameters, P53 oncoprotein and cathepsin-D. *Anticancer Res* 2001; 21: 2207-12.
20. MENARD S, FORTIS S, CASTIGLIONI F, AGRETI R, BALSARI A. HER2 as a prognostic factor in breast cancer. *Oncology* 2001; 61(suppl.) 2: 67-72.
21. NAKOPOULOU LL, ALEXIADOU A, THEODOROPOULOS GE, LAZARIS AC, TZONOU A, KERAMOPOULOS A. Prognostic significance of the co-expression of p53 and c-erbB-2 proteins in breast cancer. *J Pathol* 1996; 179: 31-8.
22. GODOY AB, NETO MM, LOGULLO AF *et al.* Prediction of outcome in early stage primary breast cancer by c-erbB-2 and P53 immunostaining. *Breast Cancer Res Treat* 2001; 69: 266.
23. BEENKEN SW, GRIZZLE WE, CROWE DR *et al.* Molecular biomarkers for breast cancer prognosis: coexpression of c-erbB-2 and P53. *Ann Surg* 2001; 233: 630-8.

Endereço para correspondência

Gilberto Uemura
Depto. de Ginecologia e Obstetrícia
Distrito de Rubião Jr. s/n
CEP 18618-970 – Botucatu-SP
Tel.: (14) 6802-6063
Fax: (14) 6822-1933
e-mail: guemura @ fmb.unesp.br