

**FUNDAÇÃO FACULDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS MÉDICAS
DE PORTO ALEGRE – FFFCMPA
IRMANDADE DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE PORTO ALEGRE**

MARIO CASALES SCHORR

**RELAÇÃO DA EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DOS MARCADORES
PROGNÓSTICOS NOS CARCINOMAS INTRADUCTAIS COM O COMPONENTE
INTRADUCTAL DOS CARCINOMAS INVASORES DE MAMA**

Porto Alegre

2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MARIO CASALES SCHORR

**RELAÇÃO DA EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DOS MARCADORES
PROGNÓSTICOS NOS CARCINOMAS INTRADUCTAIS COM O COMPONENTE
INTRADUCTAL DOS CARCINOMAS INVASORES DE MAMA**

Dissertação apresentada à Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre – FFFCMPA, Programa de Pós Graduação em Patologia – Patologia Geral e Experimental, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Galleano Zettler

Porto Alegre

2007

S374e **Schorr, Mario Casales**

Relação da expressão imunoistoquímica dos marcadores prognósticos nos carcinomas intraductais com o componente intraductal dos carcinomas invasores de mama / Mario Casales Schorr; orient. Cláudio Galleano Zettler. Porto Alegre: FFFCMPA, 2007.

53f.; 3 tab.

Dissertação (Mestrado) Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre. Programa de Pós- Graduação em Patologia. Área de concentração: Patologia Experimental.

1. Neoplasia mamária. 2. c-erb-B2. 3. Receptor de estrogênio. 4. Receptor de progesterona. 5. Ki67. 6. p53. 7. Intraductal. 8. Componente intraductal – invasor. I. Zettler, Cláudio Galleano. II. Título.

C.D.D. 616.994 49

Ruth Oliveira / CRB10/501
Bibliotecária

Agradecimentos:

Agradecer ao Dr. Cláudio Galleano Zettler é reconhecer a importância maior das idéias.

À minha mãe Vera, ao meu irmão Marcel, ao meu avô Bonifácio e à minha avó Ladir que me mostram o significado e me dão a tranquilidade de ter uma família.

À Fernanda, pelo companheirismo, cuidado e apoio incondicional, que a tornam pilar fundamental da minha vida.

Ao Dr. José Luiz Pedrini, com quem aprendo diariamente.

Dedicatória:

Às pessoas que são, concomitantemente, objeto e objetivo do estudo das patologias da mama.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas	6
Lista de tabelas do artigo.....	7
Resumo	8
1 REVISÃO DA LITERATURA	9
1.1 Introdução.....	10
1.2 Epidemiologia	10
1.3 Fatores de risco	12
1.4 Patologia do carcinoma intraductal e invasor	12
1.4.1 Apresentação clínico-patológica do carcinoma ductal invasor	14
1.4.2 Apresentação clínico-patológica do carcinoma intraductal	14
1.5 Fatores prognósticos e preditivos	16
1.5.1 Tipo histológico	16
1.5.2 Linfonodos axilares	17
1.5.3 Tamanho do tumor	17
1.5.4 Grau tumoral	18
1.5.5 Outros fatores	18
1.5.6 Marcadores tumorais usados no estudo	19
1.6 Carcinoma invasor de mama com componente intraductal.....	26
2 JUSTIFICATIVA.....	28
3 OBJETIVOS	28
3.1 PRIMÁRIO	28
3.2 SECUNDÁRIO	28
4 HIPÓTESES	29
4.1 H0	29
4.2 H1	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
5 ARTIGO EM PORTUGUÊS: CARCINOMA DUCTAL IN SITU E O COMPONENTE IN SITU DO CARCINOMA INVASOR DE MAMA, SÃO ENTIDADES DIFERENTES?.....	37

Lista de abreviaturas

CDI: carcinoma ductal invasor;

CDIS: carcinoma intraductal isolado;

CLIS: carcinoma lobular *in situ*;

CLI: carcinoma lobular invasor;

CDI+CDIS: carcinoma ductal invasor com componente intraductal;

IHQ: imunohistoquímica;

HE: hematoxilina-eosina;

PBS: solução salina de fosfato de sódio;

RE: receptor de estrogênio;

RP: receptor de progesterona;

P53: proteína do gene TP53;

Ki67: proteína do gene Ki67;

RFCE: receptor do fator de crescimento epidermal;

DNA: ácido desoxirribonucleico;

NSABP: national surgical adjuvant breast and bowel project;

FAC: 5 fluorouracil, adriamicina, ciclofosfamida;

CMF: ciclofosfamida, methotrexato, 5 fluorouracil;

CGA: campos de grande aumento;

VEGF: fator de crescimento angiogênico vascular endotelial

MDR1: gene de resistência a múltiplas drogas;

SPSS: statistical package for the social sciences;

OMS: Organização Mundial de Saúde.

Lista de tabelas do artigo

Tabela 1 – Características das pacientes.

Tabela 2 – Comparação dos marcadores tumorais e expressão imunoistoquímica entre os componentes intraductal e invasor do CDI.

Tabela 3 – Comparação dos marcadores tumorais e expressão imunoistoquímica entre o componente in situ do CDI versus o CDIS quanto à positividade e percentual de positividade – números (percentagens)

RESUMO

Introdução: O objetivo desse estudo é comparar a expressão imunoistoquímica do receptor do fator de crescimento c-erb-B2, receptor de estrogênio (RE), receptor de progesterona (RP), medida de proliferação Ki67 e da proteína supressora tumoral p53 no carcinoma ductal *in situ* (CDIS) com o carcinoma invasor com componente *in situ* (CDI+CDIS) de mama.

Métodos: A expressão imunoistoquímica desses receptores foi analisada em 45 casos de CDIS e em 45 casos de CDI+CDIS. O teste de Mann-Whitney e o índice Kappa foram usados para fazer a análise estatística.

Resultados: Comparados os CDIS com positividade de RE (39 / 45 casos ou 86,7% e p 0,03 mediana de 80% com intervalo interquartil de 25 – 75% e p 0,01) e de RP (36 / 45 ou 80%, p 0,01 mediana de 70%, intervalo interquartil 25 – 75%, p 0,01) aos componentes *in situ* dos CDI+CDIS quanto à expressão do RE e RP, o CDIS apresentou maior expressão, estatisticamente significativa, em relação aos componentes *in situ* que apresentaram RE (30 / 45 casos ou 66,7%, mediana de 70%) e RP (25 / 45 casos ou 55,6%, mediana de 20%). Não houve diferença significativa entre os outros marcadores e, quando comparados os componentes *in situ* e invasores do mesmo tumor, o índice Kappa mostrou boa concordância para c-erb-B2, Ki67 e p53 e muito boa concordância para RE 0,84 e RP 0,82, na variação da expressão de positividade e negatividade desses marcadores.

Conclusão: Ocorreu maior expressão dos RE e RP e não houve diferença na expressão do c-erbB-2, Ki67 e p53 nos CDIS em relação aos componentes *in situ* de CDI+CDIS, o que sugere melhor prognóstico com menor risco de invasão. Não houve diferença na expressão dos marcadores entre os componentes *in situ* e invasores do mesmo tumor, indicando a expressão monoclonal da doença.

Palavras-chave: Carcinoma de mama, c-erb-B2, receptor de estrogênio, receptor de progesterona, Ki67, p53, intraductal, invasor com componente *in situ*

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 INTRODUÇÃO

No tratamento do câncer de mama, o objetivo final é chegar o mais próximo do tratamento adjuvante mais efetivo, sendo necessário se ter todos os parâmetros dos fatores prognósticos e preditivos revelantes disponíveis no momento de tomada de decisão.¹ Alguns fatores clínicos (idade da paciente), patológicos (tipo histológico, tamanho, grau tumoral e estado dos linfonodos axilares) e biológicos (estado dos receptores de estrogênio e progesterona) dos tumores primários são considerados medidas valiosas do risco de progressão da doença e influenciam a escolha das intervenções adjuvantes.^{2,3} Entretanto, os parâmetros disponíveis são imperfeitos e falham na tentativa de individualizar e separar pacientes com riscos diferentes de recidiva e morte ou, no caso do carcinoma intraductal, estimar os riscos de recidivas tanto da lesão *in situ* como da forma invasiva, o que pode levar muitas vezes a um tratamento cirúrgico impreciso dessas pacientes. Pois, para um fator ser útil ele deve ter validade técnica, ou seja, a técnica usada para medir o fator deve ser sensível, específica, reprodutível e interpretada de maneira uniforme por laboratórios diferentes. Um teste com validade clínica deve dar subsídios para identificar pacientes com riscos diferentes para recorrência, sobrevida ou resposta ao tratamento que sejam independentes de outros fatores, e ainda, deve ser capaz de influenciar nas decisões clínicas.⁴

A ausência de poderosos preditores do resultado clínico implica que algumas pacientes que se beneficiariam do tratamento adjuvante acabam não sendo tratadas, enquanto que outras são desnecessariamente submetidas à terapêutica.⁵ Os fatores prognósticos bem estabelecidos, conforme Fukutomi⁶, são o envolvimento dos linfonodos axilares, tamanho, grau histológico e nuclear e tipo histológico do tumor, expressão do receptor de estrogênio, progesterona, c-erb-B2 e índices proliferativos.

1.2 EPIDEMIOLOGIA

O câncer de mama tem um enorme impacto na saúde da mulher. A incidência e a mortalidade do câncer de mama variam consideravelmente pelo mundo, a incidência é maior (>80 por 100.000) em regiões desenvolvidas e baixa (<30 por 100.000) nas regiões em desenvolvimento, mas a incidência está aumentando em quase todos os lugares. Por outro lado, a mortalidade entre as mulheres de todas as etnias e idades decresceu em média 2-3% por ano entre 1990 e 2002, principalmente nos países de alto risco, devido à combinação da intensificação de dos esforços para detecção precoce com a introdução do rastreamento por mamografia e avanços no tratamento.^{7,8}

No Brasil, o câncer de mama é o que mais causa morte entre as mulheres. É a segunda neoplasia mais incidente no país, sua estimativa em 2006 foi de 48.930 casos novos com taxa bruta de 52/100.000.⁹ É a neoplasia mais incidente no RS, com estimativa em 2006 de 4.960 casos novos e taxa bruta de 88,81/100.000. Porto Alegre apresenta 1.140 novos casos com taxa bruta de 146,83/100.000 mulheres, a maior entre as cidades brasileiras, conforme dados do INCA – Ministério da Saúde.⁹ Segundo dados da Secretaria de Saúde do Estado do Rio Grande do Sul, a mortalidade por carcinoma de mama era crescente até 1994, ocorrendo sua diminuição a partir de 1995. É a segunda causa mundial de morte por câncer entre as mulheres (15%), inferior apenas ao câncer de pulmão.¹⁰

A incidência é muito baixa (< 10 casos novos / 100.000 mulheres) antes dos 25 anos e aumenta até 100 vezes em torno dos 45 anos. Isso sugere o envolvimento dos hormônios sexuais na etiologia do câncer de mama, pois os tumores hormônio-independentes não exibem essa dramática mudança na incidência durante o período reprodutivo. Após a menopausa há grande variação nas diferentes regiões do mundo. Entre 4 continentes avaliados, a incidência continua a aumentar até os 75 anos de idade nos Estados Unidos e Suécia, na Colômbia esse aumento com a idade é bem menor após os 45 anos. No Japão, a incidência após os 45 anos atinge um platô acompanhado por um leve decréscimo e entre as mulheres afro-americanas a tendência recente é de estabilização a partir dos 50 anos.¹⁰ Mulheres com padrão sócio-econômico mais alto ou de comunidades urbanas têm um risco

aumentado para desenvolver câncer de mama em relação às mulheres que têm baixo padrão sócio-econômico ou provenientes de comunidades rurais.¹¹

A grande variação da incidência do câncer de mama no mundo pode ser atribuída às diferenças genéticas e/ou estilo de vida, incluindo dieta e exposições ambientais. Estudos em migrantes demonstraram que a incidência aumenta em pessoas que saem de uma região de baixo risco (exemplo: países asiáticos) para locais com maior incidência (exemplo: Estados Unidos), já 10 anos após a imigração. O que sugere a contribuição crucial de fatores ambientais e sócio-culturais.¹⁰ Esses fatores são transmitidos às gerações subseqüentes e os descendentes assumem o risco para câncer de mama da população nativa dentro de uma a duas gerações.¹²

Desde a década de 50, a incidência tem aumentado em muitos países de menor incidência, ou baixo risco e em países ocidentais com maior incidência, ou alto risco, o que pode, em parte, ser explicado pelo uso freqüente da mamografia nestes países. Os países asiáticos quase dobraram a incidência de carcinoma de mama desde 1950, resultado de mudança dramática no estilo de vida nessas regiões, trazida pelo desenvolvimento econômico e crescimento na proporção de mulheres na força de trabalho industrial, fato que teve impacto nos fatores de risco tais como idade da menarca, fertilidade e estado nutricional. Assim, a convergência do índice de mortalidade por câncer de mama pode estar ocorrendo internacionalmente, em parte refletindo a mesma tendência internacional dos fatores reprodutivos.¹³

Quanto ao carcinoma intraductal, por ser uma lesão incomum e curada rotineiramente pela mastectomia, teve relegado o estudo de sua história natural ou a exploração de tratamentos alternativos. O uso do rastreio pela mamografia resultou num aumento significativo na sua taxa de detecção. Entretanto, até hoje, a proporção de mulheres com lesões *in situ* detectadas pela mamografia e que evoluirão para doença invasiva é incerta e pouco entendida.^{14,15}

Dados do *Surveillance, Epidemiology, and End Results* (SEER) revelam que apenas 2,8% dos carcinomas de mama diagnosticados em 1973 eram CDIS.¹⁵ A

incidência atual de carcinoma *in situ* (ductal e lobular) diagnosticado em mulheres submetidas ao rastreamento mamográfico é de 20%. O CDIS é diagnosticado primariamente através da mamografia acompanhado por biópsia com localização estereotáxica.¹⁵ A incidência de lesões *in situ* aumentou aproximadamente sete vezes nos últimos vinte anos, após a introdução da mamografia de rastreamento, comparada com um aumento de 40% dos carcinomas invasores.¹⁶

1.3 FATORES DE RISCO

O conhecimento dos fatores comportamentais que influenciam no risco do câncer de mama tem aumentado e sua relação com a fisiopatologia da doença está melhor definida. No entanto, a importância e a força de associação de cada um deles é muito debatida, sendo ainda motivo de muita controvérsia entre os pesquisadores.

Estes fatores incluem a idade, localização geográfica (país de origem) e nível sócio-econômico, eventos reprodutivos, uso de hormônios exógenos, associado ao estilo de vida (álcool, dieta, obesidade e atividade física), história familiar de câncer de mama, densidade mamográfica, história de doenças benignas da mama, radiação ionizante, densidade óssea, peso, níveis de IGF-1 e prolactina, agentes quimiopreventivos e fatores genéticos - genes de alta penetrância (BRCA1, BRCA2, p53, PTEN) e de baixa penetrância (genes do citocromo P450) e genes que codificam sinais celulares (RP, RE, TNF alfa ou HSP70).¹⁰

1.4 PATOLOGIA DO CARCINOMA INTRADUCTAL E INVASOR

O carcinoma invasivo é um grupo heterogêneo de lesões que diferem de acordo com sua apresentação clínica, aspectos radiográficos, características patológicas e potencial biológico. Em comum, tem-se a infiltração do estroma mamário e potencial para invasão de estruturas circundantes e a capacidade de

metastatização. A seguir temos um resumo das variedades dos tipos histológicos tumorais baseado em classificação da OMS.¹⁷

A. Não-invasivo

- 1a. Carcinoma intraductal;
- 1b. Carcinoma intraductal com doença de Paget;
2. Carcinoma lobular *in situ*.

B. Invasivo (infiltrante)

- 1a. Carcinoma ductal invasivo – sem outra especificação;
- 1b. Carcinoma ductal invasivo com doença de Paget;
2. Carcinoma lobular invasivo;
3. Carcinoma medular;
4. Carcinoma colóide (mucinoso);
5. Carcinoma tubular;
6. Carcinoma adenóide cístico;
7. Carcinoma apócrino;
8. Carcinoma papilar invasivo

O tipo histológico mais comum é o carcinoma ductal invasivo tipo não especial. A classificação inclui o carcinoma intraductal ou ductal *in situ* (CDIS), o carcinoma lobular *in situ* (CLIS) e invasivo (CLI) e, também, os carcinomas ductais invasivos do tipo especial, que têm características histológicas específicas ou especiais e devem mostrar os aspectos histológicos definidos de um tipo especial em pelo menos 90% do tumor, compreendem 20-30% das lesões invasivas. Outros tipos histológicos são raros.¹⁸

1.4.1 Apresentação clínico-patológica do carcinoma ductal invasor

O carcinoma ductal invasor apresenta-se, na maioria das vezes, como massa palpável ou anormalidade mamográfica. Não há característica específica que o diferencie dos tipos histológicos especiais. Na macroscopia apresenta-se como um nódulo ou uma massa firme e cirrosa, com superfície arenosa, cinza-esbranquiçada, com contorno estrelado ou espiculado e com margens irregulares. A aparência microscópica é muito heterogênea, inclusive dentro do mesmo tumor, em relação ao seu desenvolvimento, análise citológica, atividade mitótica, reação desmoplásica e extensão da possível lesão intraductal associada.¹⁷

Por serem lesões heterogêneas, há tentativas de subclassificação dos carcinomas infiltrantes. O método mais comum é graduá-lo baseado apenas nas características nucleares ou em combinação com as arquiteturais. Em relação às nucleares, a mais usada é a de Black et al.¹⁹ Mas, na prática, a graduação histológica mais utilizada e é embasada em 3 características: a formação de túbulos, o pleomorfismo nuclear e a atividade mitótica. O mais utilizado é o de Elston e Ellis²⁰, que é uma modificação de Bloom e Richardson de 1957.²¹

A expressão de marcadores biológicos, como os receptores hormonais, fatores de crescimento, produtos de genes supressores e outros é extremamente variável no carcinoma ductal infiltrante. Os tumores de tipo não especial têm o pior prognóstico entre os tumores invasivos da mama, no entanto, mesmo dentro desse grupo, há subtipos com diferentes prognósticos.²²

1.4.2 Apresentação clínico-patológica do carcinoma intraductal

O rastreio mamográfico resultou num grande aumento da incidência, ou taxa de detecção, do carcinoma intraductal. Entre 1973 e 1992 houve um aumento da incidência de 587% desse tipo de lesão contra 34,3% de carcinomas ductais invasores no mesmo período. Os fatores de risco para desenvolver carcinoma intraductal e invasor são similares.^{15,23}

O CDIS resulta de uma ruptura na arquitetura do epitélio glandular da mama envolvendo a perda da cavidade luminal e proliferação celular epitelial de aparência maligna em unidades acinares que ocorrem pelo desequilíbrio entre a apoptose e proliferação celular, sem o rompimento da membrana basal.^{24,25} A história natural do CDIS e a probabilidade de ocorrer progressão para o carcinoma infiltrante é pouco clara²⁵.

O CDIS é geralmente categorizado pela descrição arquitetural em 5 grupos: comedo (camada de células neoplásicas ao redor de uma área central de necrose), cribriforme (células neoplásicas orientadas radialmente formando lúmen glandular), papilar (papilações com grandes hastes fibrovasculares), sólido (preenchimento do ducto com células neoplásicas) e micropapilar (projeções papilares nos espaços do ducto dilatado). Entretanto, esses grupos não levam em consideração importantes fatores como o grau nuclear (alto, intermediário ou baixo), necrose (presença ou ausência) e polarização celular (diferenciação arquitetural).¹⁵

Pacientes com CDIS de alto grau, extensos e com necrose têm maior risco de desenvolver recorrência.¹⁵ A predição do tipo histológico e do tamanho tumoral através da mamografia pode não ser confiável. A aparência mamográfica das microcalcificações associada a outros padrões de lesões não invasoras é menos distinta do que as calcificações observadas em lesões tipo comedo e é semelhante a de vários processos benignos.²⁶ Baseada na extensão das microcalcificações, a mamografia usualmente subestima o tamanho do CDIS, inclusive utilizando incidências magnificadas, embora a discrepância seja menor que 2cm em 80 – 85% dos casos.²⁷ Vários esquemas de classificação têm sido propostos a fim de superar as limitações do sistema de classificação arquitetural tradicional. Eles estratificam as lesões intraductais basicamente quanto ao grau nuclear e necrose, sendo o padrão arquitetural considerado secundário. Silverstein et al modificaram o sistema de Nottingham e desenvolveram o Índice Prognóstico de Van Nuys para ajudar no complexo processo de escolha do tratamento (mastectomia, cirurgia conservadora e radioterapia ou apenas cirurgia conservadora). O índice combina três variáveis preditoras de recorrência local: tamanho tumoral, amplitude da margem livre e classificação patológica.²⁸ O estudo dos marcadores tumorais visa proporcionar o melhor entendimento da biologia dessas lesões e auxiliar na sua classificação.²⁹

1.5 FATORES PROGNÓSTICOS E PREDITIVOS

O curso clínico do câncer de mama é extremamente variável. Desde longos períodos livres da doença até pacientes que vivenciam uma rápida deterioração com recorrência precoce e morte. Esta variabilidade pode ser explicada por diferenças nas taxas de crescimento tumoral, capacidade de invasão, potencial metastático e outros mecanismos não completamente compreendidos.⁴ O conhecimento dos marcadores biológicos que medem essas funções seria útil para que as pacientes pudessem ser divididas em grupos com riscos de recorrência diversos.

Um **fator prognóstico** é uma medida disponível que pode ser associada ao tempo de sobrevida total ou livre de doença na ausência de terapia sistêmica adjuvante. Ele pode ser usado para prever a história natural do tumor. O **fator preditivo** é qualquer medida associada a uma resposta ou sua falta em uma terapia particular.³⁰ Os fatores prognósticos padronizados no câncer de mama primário são: o envolvimento dos linfonodos axilares, tamanho, grau histológico e nuclear e tipo histológico do tumor, expressão do receptor de estrogênio, progesterona, c-erb-B2 e índices proliferativos.⁶

Nenhum desses fatores, sozinhos ou combinados, separa completamente as pacientes que serão curadas com a terapia local dos casos em que a doença está destinada a recidivar e cujas pacientes morrerão se não sofrerem intervenção. Assim, novos marcadores devem ser considerados.

1.5.1 Tipo histológico

Os carcinomas ductais invasores tipo não especial são as formas mais comuns de apresentação do câncer de mama e, em geral, apresentam maior incidência de linfonodos axilares positivos e pior prognóstico clínico.¹⁷

1.5.2 Linfonodos axilares

O fator prognóstico mais importante que afeta tanto o controle local, sobrevida livre de doença e sobrevida global são o comprometimento metastático dos linfonodos axilares, proporcional ao número de linfonodos acometidos.^{31,32}

Querzoli et al³³ avaliaram o risco de eventos adversos e recorrência à distância comparando casos de câncer de mama axila negativa (pN0i-), nanometástases, ou menores de 0,2mm (pN0i+), micrometástases, entre 0,2 e 2mm (pN1 mi) e casos axila positiva (pN1). Encontraram diferença significativa para todos os eventos adversos ao comparar pN0i+ versus pN0i- e também quando foram agrupados os casos pN0i+ / pN1 mi vs. pN0i-. Não houve diferença na comparação entre pN0i+ versus pN1 mi. Os autores sugerem a inclusão de procedimentos para detecção de nanometástases no estadiamento axilar.

A utilização da técnica do linfonodo sentinela axilar como rastreamento de metástases axilares é segura e mostrou ser um método acurado no rastreamento de metástases axilares em mulheres com tumores iguais ou menores que 2cm.³⁴ A prática-padrão consiste em administrar terapia sistêmica adjuvante a todos pacientes com linfonodos positivos.^{2,3} No entanto, permanece a necessidade de se identificar novos marcadores para todas as pacientes, com linfonodos positivos ou negativos.

1.5.3 Tamanho do tumor

No grupo de pacientes com axila negativa o tamanho do tumor é o fator preditivo mais poderoso e consistente para o risco de recorrência. Ainda não se sabe se um tumor com um centímetro detectado pela mamografia possui a mesma história natural do similar detectado ao exame físico. Tumores pequenos podem apresentar intrinsecamente alta capacidade proliferativa e potencial metastático e consideram-se outros fatores para determinar seu prognóstico.¹⁸

1.5.4 Grau tumoral

A graduação histológica do câncer de mama define subtipos morfológicos com informações sobre seu potencial metastático, embora com considerável desacordo interobservadores e grande heterogeneidade clínica, particularmente entre os moderadamente diferenciados (grau 2).³⁵

O grau tumoral é um potente preditor do curso do câncer de mama, mas a pobre reprodutibilidade e o desacordo entre os observadores dificultam sua utilização no estadiamento.¹⁹ Os sistemas mais utilizados são a classificação de Scarff-Bloom-Richardson de 1957²¹ modificado por Elston e Ellis²⁰, e o sistema de estadiamento nuclear de Fisher de 1980.²²

1.5.5 Outros fatores

A presença de componente intraductal extenso, invasão de linfáticos, necrose tumoral e infiltrado de células mononucleares têm sido associados à evolução clínica, ainda que nenhum deles tenha sido validado como fator prognóstico ou preditivo.¹⁸

1.5.5.1 Idade ao diagnóstico

Xiong et al³⁶ analisaram e compararam o resultado do tratamento do câncer de mama em mulheres jovens (< 30 anos) às mulheres acima de 30 anos. Encontraram tendência a pior sobrevida global entre as mulheres com 30 anos ou menos e concluíram que essas mulheres têm pior prognóstico quando comparadas às mais velhas. Achado corroborado por Hartley et al³⁷ que encontraram menor sobrevida global entre as mulheres com 40 anos ou menos, achados desfavoráveis dos marcadores bioquímicos e estágio mais avançado ao diagnóstico.

A crença que as mulheres jovens desenvolvam formas mais agressivas de câncer de mama, com tendência a maior tamanho, grau tumoral, incidência de recorrência e morte, continua controversa e as possíveis razões permanecem obscuras.^{37,38}

1.5.5.2 Etnia

A sobrevivência após o diagnóstico é menor entre negras em comparação às brancas.³⁹ A condição socioeconômica pior, entre outros fatores, está associada a pior prognóstico e estágio mais avançado do câncer de mama, entretanto a causa dessa associação não está bem clara. Em estudo com apenas mulheres indigentes caucasianas e afro-americanas as disparidades raciais quanto ao prognóstico da doença essencialmente desapareceram.⁴⁰

1.5.6 Marcadores tumorais usados no estudo

1.5.6.1 Expressão do Ki67

O Ki67 é um gene que codifica um antígeno nuclear que é fortemente ligado ao ciclo celular. É um marcador de proliferação celular e é usado como fator prognóstico do câncer de mama.⁴¹ A expressão imunoistoquímica do Ki67 correlaciona-se diretamente com o grau histológico, índice mitótico, está significativamente correlacionada com fração celular na fase S⁴² e com a imunonegatividade do receptor de estrogênio.⁴¹ Além disso, genes envolvidos com a apoptose e morte celular (bcl2, MAP2K4 e TNF 10) têm sua atividade diminuída em tumores com imunopositividade para Ki67 acima de 40%, o que pode contribuir para um comportamento clínico mais agressivo, com maiores índices de proliferação celular desses tumores.⁴¹

Crosier et al.⁴³ estudaram as diferenças entre a expressão do Ki67 e c-erb-B2 entre os tumores de mama detectados por rastreamento mamográfico e o intervalo de

aparecimento dos tumores. Mostraram que a alta expressão do Ki67 sugere que os tumores podem tornar-se sintomáticos, no intervalo entre os rastreios, como resultado dos níveis aumentados de proliferação celular.

Existe correlação significativa entre a ploidia do DNA e aumento do índice do Ki67. Quando adotado um ponto de corte de 50% ou mais são identificados a maioria dos tumores aneuplóides, mas com perda da sensibilidade, pois muitos tumores aneuplóides apresentam baixa fração celular na fase S.⁴² Um alto índice de Ki67 é correlacionado com positividade do c-erb-B2, à idade jovem de aparecimento do tumor e menor expressão dos receptores hormonais.⁴⁴

Estes parâmetros podem então ser considerados fatores prognósticos, pois têm influência no comportamento clínico do câncer de mama e são utilizados para a avaliação dessas lesões, ao lado de outros dados clínico-patológicos.

1.5.6.2 Receptores de estrogênio e progesterona

O receptores de estrogênio (RE) e de progesterona (RP) pertencem a uma superfamília de receptores hormonais que inclui diversos receptores hormonais esteróides, além de incluir os receptores do hormônio da tireóide, da vitamina D e do ácido retinóico. Essas proteínas funcionam como fatores de transcrição quando se ligam a seus respectivos ligantes. O clássico RE (agora chamado RE alfa) contém 595 aminoácidos.⁴⁵

Os maiores estudos, com períodos maiores de acompanhamento, mostraram consistentemente que pacientes com RE positivo tinham intervalos livres de doença maiores que as de receptor negativo, aproximadamente 10% em 5 anos.^{46,47} O valor da mensuração do RP nas pacientes com linfonodos negativos ainda não está claro. Teoricamente a presença desse receptor indica resposta ao estrogênio intacta, pois sua produção deve-se à estimulação estrogênica. Em análises multivariadas de pacientes linfonodos negativos, porém, tanto o receptor de estrogênio quanto o de progesterona são importantes fatores preditores da evolução clínica.

Os tumores receptores hormonais positivos são geralmente bem diferenciados, com índice de proliferação baixo e metastatizam menos freqüentemente para o cérebro e o fígado.⁴⁸ De forma diversa, os receptores negativos são geralmente grau III na classificação de Elston e Ellis (modificada de Scarff-Bloom e Richardson), com índice de proliferação alto, tendem a desenvolver recorrência em sítios viscerais e apresentam respostas hormonais inferiores a 10%.⁴⁹

Os maiores índices de resposta são encontrados nas pacientes com tumores que contêm receptores tanto de estrogênio como de progesterona. A ausência da expressão do RP com RE positivo pode contribuir para a resistência ao tamoxifeno⁵⁰. Stendahl et al⁵¹ encontraram aumento da sobrevida global e livre de doença para pacientes pré-menopáusicas com tumores expressando o RP em mais de 75% dos núcleos e concluem que o RP é um preditor mais forte quanto à resposta à hormonioterapia do que o RE. Em conjunto, os tumores com níveis elevados de RE possuem um prognóstico melhor do que aqueles com níveis intermediários ou sem receptores.^{17,51} Naqueles onde não há comprometimento linfonodal a diferença entre os grupos, receptores hormonais positivos e negativos, não é marcante.

Alguns estudos demonstraram que as curvas de sobrevida livre da doença tendem a se unir após um período mais longo de acompanhamento, o que sugere que o estado do receptor estrogênico seja um reflexo da capacidade proliferativa, em vez do potencial metastático¹⁸. Isso sugere que o RE seja um fraco fator prognóstico. Em estudo com pacientes recebendo terapia endócrina o RE positivo foi associado com aumento na sobrevida livre de doença de 30% em 5 anos, reforçando o forte potencial preditivo da análise do RE.⁵²

Os pontos de corte usados para definir a positividade do receptor de estrogênio dependem do objetivo da técnica. Pontos de corte altos devem ser utilizados para identificar pacientes que se beneficiarão da terapia hormonal. Isso resultará em menor porcentagem de positividade para RE. No entanto, para identificar mulheres que não teriam este benefício pontos de corte mais baixos seriam preferíveis.⁵² Jalava et al⁵³ avaliam que o melhor ponto de corte para definir

positividade pode não ser o mesmo para os diferentes grupos de pacientes. Allred et al.⁴ demonstraram que pacientes com tumores que expressam receptores de estrogênio em apenas 1% das células tumorais já se beneficiam da terapia endócrina adjuvante.

A quimioterapia é utilizada para pré e pós-menopáusicas com receptor estrogênico negativo, sendo a hormonioterapia reservada para tumores com receptor positivo. Entre as pacientes com carcinoma de mama 50% nunca terão recorrência, então é fundamental identificar quais mulheres têm alto risco de recorrência para oferecer-lhes o tratamento adjuvante.²²

1.5.6.3 C-erb-B2

As células epiteliais da mama estão sob influência de vários hormônios e fatores de crescimento. Os receptores do fator de crescimento tirosina-cinase têm sido subclassificados em nove famílias, baseado na estrutura de seus domínios extracelular ligante e cinase intracelular e a natureza dos seus ligantes ativos.⁵⁴ O tipo I inclui a família do receptor do fator de crescimento epidermal (RFCE) e estão implicados no surgimento do câncer de mama. Seus membros são o RFCE (ou C-erb-B1), HER-2/neu (ou c-erb-B2), HER-3 (c-erb-B3) e HER-4 (c-erb-B4).

O gene c-erb-B2 é um membro da classe dos oncogenes associado à proteína tirosina quinase. Está localizado no 17q21 e transcrito em RNAm de 4 a 5 kb, traduzido em glicoproteína de 185 kd que é expressa em níveis baixo nas células epiteliais e mioepiteliais do tecido mamário normal. Ele pertence a uma classe de antígenos tumorais semi-específicos e é codificado por genes que não sofreram mutação mas que estão superexpressos¹⁷ em 18-20% dos casos (análise IIQ), 31% (PCR) e 26% (FISH).⁵⁵ É reconhecido nos mecanismos de promoção tumoral, de resistência da doença à terapia e de vigilância da imunidade do câncer de mama.⁴ Está superexpresso no carcinoma intraductal de alto grau e, em níveis menores, nos de baixo grau.

A amplificação do c-erb-B2 foi colocada como sendo preditiva de menor sobrevida total e livre de doença em pacientes linfonodos positivos.⁵⁵ Estudos

clínicos mostraram que o c-erb-B2 expresso ou amplificado está associado com vários fatores de mau prognóstico como receptor hormonal negativo, tumor indiferenciado, fração S elevada, linfonodos comprometidos e mutação do p53⁵⁶. Seus níveis elevados também estão relacionados à recidiva loco-regional.⁵² A superexpressão do c-erb-B2 foi significativamente maior em mulheres na pré-menopausa (26%) em relação às com mais de 60 anos (12%). A expressão do oncogene, maior em mulheres jovens, sugere maior agressividade neoplásica.¹⁸

Muss et al.⁵⁷ avaliaram a sua interação com o tratamento adjuvante com doxorubicina. Os tumores com superexpressão do c-erb-B2 responderam melhor a tratamentos com FAC, em detrimento do CMF. Segundo estudo de Del Maestro⁵⁸, ao comparar regimes baseado em antraciclinas, convencional de 21/21 dias e dose intensiva de 14/14 dias, em pacientes HER2 positivos e negativos, demonstrou que o regime FEC(21) teve pior sobrevida global e livre de doença para pacientes HER2 positivo, mas quando utilizado FEC(14) as pacientes tiveram mesma sobrevida global e livre de doenças das HER2 negativas. Hitt⁵⁹ revisou os resultados de 7 ensaios clínicos para determinar se tumores HER2 positivos têm melhor resposta ao tratamento baseado em antraciclinas comparados com regimes não contendo antracíclicos. Concluíram que o *status* do HER2 pode estar envolvido na resposta aos regimes baseados em antracíclicos, mas essa ligação não foi consistente. Pritchard et al⁵⁵ relatam que cânceres que amplificam HER2 tiveram uma resposta superior com CEF em relação ao CMF, ao contrário dos tumores que não amplificam HER2 que não diferiram significativamente na resposta à quimioterapia (CEF, CMF).

Pouco mais de 20% dos tumores HER-2 positivos mostram coloração moderada ou forte dos RE. A superexpressão do HER-2 é associada com pior prognóstico em pacientes com câncer de mama e em alguns estudos é associada com pior resposta à terapia antiestrogênica. Em estudo de Francis⁶⁰, as pacientes HER-2 positivo não mostraram pior sobrevida específica ao câncer de mama com o tratamento com tamoxifeno, achado diferente dos estudos prévios.

O desenvolvimento de terapêuticas farmacológicas baseadas no uso de anticorpos monoclonais contra o c-erb-B2 torna ainda mais importante a determinação sistemática desta proteína em casos de câncer de mama.⁴⁸ Baselga⁶¹

mostrou a eficácia e segurança do Trastuzumab, anticorpo monoclonal anti c-erb-B2, analisando ensaios clínicos. É o medicamento específico para inativar o receptor do c-erb-B2 na membrana celular, sendo ativo quando adicionado à quimioterapia em pacientes com tumor localmente avançado e metastático. Além disso, é ativo como agente único em mulheres com lesão metastática com receptor c-erb-B2 positivo, induzindo resposta tumoral durável e aumentando em 25% o tempo médio de sobrevida em relação à quimioterapia isolada.

1.5.6.4 p53

Entre os genes de alta penetrância, o p53 foi o primeiro gene supressor tumoral a ser ligado à hereditariedade no câncer de mama. Localizado no cromossomo 17q13, a mutação do p53 é uma das alterações genéticas mais comumente encontradas em todos os cânceres humanos, aproximadamente 50%.¹⁰

A proporção de tumores de mama com inativação da proteína p53 pela deleção ou mutação do gene p53 encontrada é bastante variável entre os estudos e nas diferentes populações e etnias. Lai⁶², ao comparar mulheres brancas hispânicas com brancas não hispânicas, encontrou 51,6% versus 70,7% de mutações, significativamente menor entre as hispânicas. Já Choi⁶³ comparou coreanas e mulheres brancas entre 45 e 60 anos e encontrou incidência de 28,8% e 21,1% respectivamente, diferença não significativa.

Erdem⁶⁴ não encontrou diferença significativa na distribuição da positividade de expressão das proteínas p53, c-erbB2 e Ki67 em relação à idade das pacientes, tamanho do tumor, seu grau histológico ou à presença de RE e RP e a expressão do p53 se correlacionou positivamente com o c-erbB-2 e Ki67. Mutações de diferentes tipos e número, localização em diversos éxons do p53 têm diferentes efeitos na sua atividade biológica.⁶⁵ Nas mulheres afetadas pela mutação, o risco de desenvolver câncer de mama antes do 45 anos de idade é 18 vezes maior, comparado à população geral, e o risco declina com a idade (máximo antes dos 20 anos).¹⁰ Allred et al.⁴ afirma ser o p53 um fator prognóstico independente para identificar pacientes com linfonodos negativos de alto risco, mas não é suficientemente válido para definir pacientes de baixo risco, não interferindo no seu tratamento.

Elledge e Allred⁶⁶ revisaram cinquenta e sete estudos com mais de treze mil pacientes e concluíram que a ativação do p53 parece estar associada a pior resultado, medido pela sobrevida total e livre de doença, mas seu significado prognóstico não é suficientemente forte para permitir que seja usado sozinho na decisão clínica. Linderholm⁶⁷ relata que o tipo selvagem da proteína p53 tem o papel de inibir a angiogênese através da trombospondina no estágio pré-clínico. Ele determina as associações entre a expressão do fator de crescimento angiogênico vascular endotelial e o status da proteína do p53, incluindo mutações em diferentes locais e tipos no câncer primário. Concluíram que a expressão do VEGF está relacionada com o p53 no câncer de mama e a combinação de ambos resulta em melhor predição do prognóstico.

Pacientes na pré-menopausa com linfonodos negativos e com tumores que acumulam p53 têm pobre resposta para ciclo de quimioterapia adjuvante e as pacientes com p53 negativo beneficiam-se desse tratamento. Mutações do p53 podem regular a expressão do MDR1, o gene de resistência a múltiplas drogas. Através deste mecanismo a resposta à terapia adjuvante pode ser modificada pela expressão do p53.⁶⁸ Elledge e Fuqua⁴¹ observaram ótima tendência de se obter benefícios da quimioterapia em pacientes com carcinoma de mama linfonodos negativos e p53 negativo pela IIQ. Mutações específicas do p53 parecem estar associadas a maior resistência a determinados agentes quimioterápicos como a doxorrubicina.⁵²

Não há dúvida que a expressão do p53 é associada a fatores adversos e que sua expressão junto com c-erb-B2 pode identificar um grupo de carcinomas com fenótipo mais agressivo.

1.6 CARCINOMA INVASOR DE MAMA COM COMPONENTE INTRADUCTAL

Uma porcentagem significativa de carcinomas invasores tem um componente *in situ* associado. Dzierzanowski⁶⁹, em estudo avaliando diagnóstico em *core-biopsies* de 95 pacientes com câncer de mama, identificou CDIS em 43 (45%) casos, sendo 34 (35,8%) com componente intraductal associado mixado ao carcinoma invasor e em 13 (14%) dos casos o componente intraductal era extenso.

Mylonas⁷⁰ comparou os CDI aos CDI+CDIS através de marcadores imunoistoquímicos. Verificou a semelhança entre o carcinoma invasor e seu componente *in situ* e a maior expressão do Her2/neu e do Ki67 no carcinoma ductal invasor isolado, o que sugere maior agressividade dos carcinomas invasores isolados. Adicionalmente, esses resultados sugerem que o CDIS poderia ser uma pré-forma maligna e resultar em um tipo agressivo de carcinoma infiltrante.

As alterações genéticas mais importantes durante a carcinogênese ocorrem na transição do tecido normal e proliferativo para o CDIS que, por sua vez, apresenta padrão de mutações e a maioria dos fatores clínicos relevantes similares às do carcinoma invasor.^{71,72,73}

Leong⁷⁴ comparou marcadores biológicos dos componentes *in situ* e invasor do mesmo tumor e demonstrou a forte correlação com o grau nuclear e com os marcadores biológicos, suportando a relação clonal entre essas lesões. Além disso, observaram a heterogeneidade do CDIS com a grande variação dos marcadores biológicos e do grau nuclear. A progressão para lesão invasora pode ser de doença intraductal de baixo grau para invasora de alto grau e também passar de alto para baixo grau no processo de invasão. O conceito de progressão da doença segue modelos como o da neoplasia intraepitelial de colo uterino, vulva, vagina e pele, onde nas quais há aumento do grau da atipia antes do desenvolvimento da invasão estromal. Em estudo de Warnberg¹⁶ tenta-se correlacionar possíveis marcadores tumorais do carcinoma intraductal associados à invasão. Não foram encontrados marcadores claramente associados com a progressão de CDIS para CDI e a

expressão dos marcadores foi quase idêntica comparando os dois componentes, o que sugere que tumores intraductais bem diferenciados progridem para carcinomas bem diferenciados, mesma relação ocorrendo com os de alto grau. Em adição, Konar⁷⁵ encontrou a maior correlação do grau histológico entre os componentes intraductais e invasores nas neoplasias GIII (91%), acompanhado pelas GI (66,6%) e das GII (57,1%).

Já Brower⁷⁶ chegou a uma conclusão importante, quanto à contribuição do componente intraductal na predição do prognóstico do CDI, ao afirmar que o tipo comedo é o mais agressivo e que pode ter valor prognóstico independente quando visto em associação com CDI. O comedocarcinoma está associado com fatores de mau prognóstico, incluindo alta ploidia do DNA, fração da fase S elevada, alta expressão do Ki67 e receptores hormonais negativos, além de má diferenciação, tumores maiores e presença de c-erb-B2 superexpresso.

Giardina⁷⁷ fez um estudo morfométrico dos núcleos de carcinomas intraductais e dos componentes intraductal e invasor de tumores combinados. Concluiu que não havia diferenças morfológicas significativas entre os núcleos do componente intraductal e invasor do mesmo tumor, mas havia diferenças entre os CDIS e o componente *in situ* dos tumores combinados e que isto pode ser uma expressão de seus comportamentos biológicos. Além disso, essas diferenças morfológicas parecem ter um melhor poder de discriminação dentro das lesões com o mesmo grau histológico.

Quanto ao impacto da extensão do componente intraductal na recidiva e sobrevida das pacientes com câncer de mama tratadas conservadoramente. Hurd⁷⁸ conclui que se as margens forem comprovadamente negativas, os tempos de sobrevida total e livre de doença e o controle local não serão adversamente afetados. Já Crombie⁷⁹ considera que há um efeito significativo no prognóstico relacionado à extensão da lesão não invasora, particularmente com respeito à recorrência local. Mas esse efeito é restrito ao volume do componente intraductal no tecido circundante à lesão invasiva e não ao componente intratumoral.

2 JUSTIFICATIVA

A avaliação dos marcadores imunoistoquímicos é fundamental na predição do prognóstico e na definição do tratamento do câncer de mama, entretanto os métodos e suas validades necessitam ser aprimorados e ter sua técnica padronizada para alcançar maior precisão, confiabilidade e reprodutibilidade de seus resultados.

3 OBJETIVOS

3.1 PRIMÁRIO

- Correlacionar a expressão imunoistoquímica dos receptores de estrogênio e progesterona, Ki67, c-erb-B2, p53 entre o CDIS e componente intraductal no CDI.

3.2 SECUNDÁRIO

- Correlacionar a expressão imunoistoquímica dos receptores de estrogênio e progesterona, Ki67, c-erb-B2, p53 entre componente intraductal e invasor no mesmo tumor.

4 HIPÓTESES

4.1 H0

Não há diferença na expressão imunoistoquímica desses marcadores no componente intraductal do carcinoma invasor em relação ao carcinoma intraductal ou entre o componente intraductal e invasor no mesmo tumor.

4.2 H1

Há correlação na expressão imunoistoquímica desses marcadores no componente intraductal do carcinoma invasor em relação ao carcinoma intraductal ou entre o componente intraductal e invasor no mesmo tumor.

REFERÊNCIAS

- 1 Viale G. Histopathology of primary breast cancer 2003. Department of Pathology, European Institute of Oncology. *The Breast*. 2003; 12:391-6.
- 2 Eifel P, Axelson JA, Costa J et al. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement adjuvant therapy for breast cancer, November 13, 2000. *J. Natl. Cancer Inst.* 2001; 93: 979-89.
- 3 Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Senn HJ. Meeting highlights: International Consensus Panel on the Treatment of Primary Breast Cancer: Seventh International Conference on Adjuvant Therapy of Primary Breast Cancer. *J. Clin. Oncol.* 2001;19:3817-27.
- 4 Allred DC, Harvey JM, Bernardo M et al. Prognostic and Predictive Factors in Breast Cancer by Immunohistochemical Analysis. *Modern Pathology*. 1998;11:155-68.
- 5 Kallioniemi A. Molecular signatures of breast cancer. Prediction of the future. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347:206-8.
- 6 Fukutomi T, Adashi-Tanaka S. Prognostic and Predictive Factors in the Adjuvant Treatment of Breast Cancer. *Breast Cancer*. 2002; 9(2):95-9.
- 7 Parkin DM, Fernandez LM. Use of statistics to assess the global burden of breast cancer. *Breast J.* 2006 Jan-Feb; 12(1):70-80.
- 8 Smigal C, Jemal A, Ward E, Gokkinides V, Smith R, Howe HL. Trends in breast cancer by race and ethnicity: up date 2006. *CA Cancer J Clin.* 2006 May-Jun; 56(3):168-83.
- 9 MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Câncer de mama Documento de Consenso*. Brasília: Instituto Nacional do Câncer, 2005.
- 10 Dumitrescu RG, Cotarla I. Understanding breast cancer risk – do we stand in 2005? *J Cell Mol Med.* 2005 Jan-Mar; 9(1):208-21.
- 11 Hampton JM, Mcelroy JA, Newcomb PA, Remington PL. Socioeconomic risk factors for breast cancer: distinguishing individual- and community- level effects, *Epidemiology*. 2004; 15:442-450.
- 12 McPherson K, Steel CM, Dixon JM. ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics, *BMJ*. 2000;321:624-628.

- 13 Hermon C, Berat V. Breast cancer mortality rates are levelling off or beginning to decline in many western countries: analysis of time trends, age-cohort and age-period models of breast cancer mortality in 20 countries. *Br. J. Cancer.* 1996;73:955-60.
- 14 Warnberg F, Nordgren H, Bergkvist I, Holmberg L. Tumour markers in breast carcinoma correlate with grade rather than with invasiveness. *Br. J. Cancer.* 2001; 85(6):869-74.
- 15 Leonard GD, Swain SM. Ductal Carcinoma *In Situ*, Complexities and Challenges, Review. *JNCI Journal of the National Cancer Institute.* 2004; 96(12):906-920.
- 16 Luke C, Priest K, Roder D. Changes in incidence of in situ and invasive breast cancer by histology type following mammography screening. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2006 Jan-Mar; 7(1):69-74.
- 17 Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins pathologic basis of disease. Basic Pathology. Philadelphia: W.B. Saunders; 1999.
- 18 Harris JR. Diseases of the breast, 3rd edition. Philadelphia (PA): Lippincott, Williams & Wilkins; 2004.
- 19 Cutler SJ, Black MM, Mork T et al. Further observations on prognostic factors in cancer of the female breast. *Cancer.* 1969; 24:653.
- 20 Elston CW, Ellis IO. The Breast. Edinburgh, UK: Churchill Livingstone, 1998, p. 365.
- 21 Bloom HJ, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer: a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer.* 1957 Sep;11(3):359-77.
- 22 Bundred NJ. Prognostic and predictive factors in breast cancer. *Cancer Treat. Rev.* 2001;27(3):137-42.
- 23 Claus EB, Stowe M, Carter D. Breast carcinoma in situ: risk factors and screening pattern. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:1811-7.
- 24 Debnath J, Mills KR, Collins NL, Reginato MJ, Muthuswamy SK, Brugge JS. The role of apoptosis in creating and maintaining luminal space within normal and oncogene-expressing mammary acini. *Cell.* 2002;111:29-40.
- 25 Olivetto I, Levine M. Clinical practice guidelines for the care and treatment of breast cancer: the management of ductal carcinoma in situ. *CMAJ* 2001;165:912-3.

- 26 Holland R, Hendriks J. Microcalcifications associated with ductal carcinoma *in situ*: mammographic-pathologic correlation. *Semin. Diagn. Pathol.* 1994;11:181.
- 27 Slanetz PJ, Giardino AA, Oyama T, Koerner FC, Halpern EF, Moore RH. Mammographic appearance of ductal carcinoma in situ does not reliably predict histologic subtype. *Breast J* 2001;7:417–21.
- 28 Silverstein MJ, Lagios MD, Craig PH, Waisman JR, Lewinsky BS, Colburn WJ et al. A prognostic index for ductal carcinoma in situ of the breast. *Cancer.* 1996;77:2267–74.
- 29 Silverstein MJ. The University of Southern California/Van Nuys Prognostic Index. In: Silverstein MJ, editor. *Ductal carcinoma in situ of the breast*. 2nd ed. Philadelphia (PA): Lippincott, Williams & Wilkins; 2002. p. 459–73.
- 30 Altman DG. *Practical Statistics for Medical Research*. London, New York: Chapman & Hall/CRC, 1991.
- 31 Kim KJ, Huh SJ, Yang JH, Park W, Nam SJ, Kim JH. Treatment results and prognostic factors of early breast cancer treated with a breast conserving operation and radiotherapy. *Jpn J Clin Oncol.* 2005 Mar; 35(3):126-33.
- 32 Cetintas SK, Kurt M, Ozkan I, Engin K, Gokgoz, S; Tasdelen I. Factors influencing axillary node metastasis in breast cancer. *Tumori.* 2006 Sep; 92(5):416-22.
- 33 Quezoli P, Pedriali M, Rinaldi R, Lombardi AR, Biganzoli E, Boracchi P. Axillary lymph node nanometastases are prognostic factors for disease-free survival and metastatic relapse in breast cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2006 Nov;15;12(22):6696-701.
- 34 Veronesi U, Paganelli G, Viale G, Luini A, Zurrada S, Galimberti V. A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N Engl J Med.* 2003 Aug 7;349(6):546-53
- 35 Ivshina AV, George J, Senko O, Mow B, Putti TC, Smeds J. Genetic reclassification of histologic grade delineates new clinical subtypes of breast cancer. *cancer res.* 2006 nov 1;66(21):10292-301.
- 36 Xiong Q, Valero V, Kau V, Kau SW, Taylor S, Smith TL. Female patients with breast carcinoma age 30 years and younger have a poor prognosis: the M.D. Anderson Center experience. *Cancer.* 2001 Nov 15;92(10):2523-8.
- 37 Hartley MC, Mckinley BP, Rogers EA, Kalbaugh CA, Messich HS, Blackhurst DW. Differential expression of prognostic factors and effect on survival in young (< or =40) breast cancer patients: a case-control study. *Am Surg.* 2006 Dec;72(12):1189-94; discussion 1194-5.

- 38 Yankaskas BC. Epidemiology of breast cancer in young women. *Breast Dis.* 2005-2006;23:3-8
- 39 Bowen RL, Stebbing J, Jones LJ. A review of the ethnic differences in breast cancer. *Pharmacogenomics.* 2006 Sep;7(6):935-42.
- 40 Maloney N, Koch M, Erb D, Schneider H, Goffman T, Elkins D. Impact of race on breast cancer in lower socioeconomic status women. *Breast J.* 2006 Jan-Feb;12(1):58-62.
- 41 Tan PH, Bay BH, Yip G, Selvarajan S, Tan P, Wu J, Lee CH. Immunohistochemical detection of Ki67 in breast cancer correlates with transcriptional regulation of genes related to apoptosis and cell death. *Mod Pathol.* 2005 mar;18(3):374-81.
- 42 Martinez-Arribas F, Nunez MJ, Piqueras V, Lucas AR, Sanchez J, Tejerina A, Schneider J. Flow cytometry vs. Ki67 labelling index in breast cancer: a prospective evaluation of 181 cases. *Anticancer Res.* 2002 Jan-Feb;22(1A):295-8.
- 43 Crosier M, Scott D, Wilson RG, Griffiths CD, May FE, Westley BR. Differences in Ki67 and c-erbB2 expression between screen-detected and true interval breast cancers. *Clin. Cancer Res.* 1999; 5(10):2682-8.
- 44 Ansquer Y, Mandelbrot L, Lehy T, Salomon I, Dhainaut C, Madelenat P. Expression of BRCA1, HER-1 and HER-2 in sporadic breast cancer and relationships to other clinicopathological prognostic features. *Anticancer Res.* 2005 Nov-Dec;25(6C):4535-41.
- 45 Elledge R, Fuqua AS. Estrogen and Progesterone Receptors. HARRIS JR. *Diseases of the breast, 3rd edition.* Philadelphia (PA): Lippincott, Williams & Wilkins; 2004.
- 46 Clark GM, McGuire WL. Steroid receptors and other prognostic factors in primary breast cancer. *Semin. Oncol.* 1988;15:20.
- 47 Dunnwald LK, Rossing MA, Li CI. Hormone receptor status, tumor characteristic and prognosis – a prospective cohort of breast cancer patients. *Breast Cancer Res.* 2007 Jan;19:9(1):R6.
- 48 Schimitt FC, Kirmaid PA, Campos PF, Bacchi CE. Contribuição do estudo IHC para o diagnóstico anatomopatológico. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med.* 1992;47:1-5.
- 49 Cooke T, Reeves J, Lannigan A et al. The value of the human epidermal growth factor receptor 2 (HER 2) as a prognostic marker. *Eur. J. Cancer.* 2001;37(1):3-10.
- 50 Arpino G, Weiss H, Lee AV, Schiff R, de Placido S, Osborne CK, Elledge RM. Estrogen receptor-positive, progesterone receptor-negative breast cancer:

- association with growth factor receptor expression and tamoxifen resistance. *J Natl Cancer Inst.* 2005 Sep;7:97(17):1254-61.
- 51 Stendahl M, Ryden I, Nordenskjold B, Jonsson PE, Landberg G, Jirstrom K. High progesterone receptor expression correlates to the effect of adjuvant tamoxifen in premenopausal breast cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2006 Aug;1:12(15):4614-8.
- 52 Schmitt FC. Marcadores prognósticos em Carcinoma Mamário. In: Alves VA, Bacchi CE, Vassalo J. *Manual de Imunohistoquímica.* São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia, 1999.
- 53 Jalava P, Kuopio T, Huovinen R, Laine J, Collan Y. Immunohistochemical staining of estrogen and progesterone receptors: aspects for evaluating positivity and defining the cutpoints. *Anticancer Res.* 2005 May-Jun;25(3c):2535-42.
- 54 Rajkumar T, Gullick WJ. The Type 1 growth factor receptors in human breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 1994;29:1.
- 55 Pritchard KI, Shepherd LE, o'Malley FP, Andrulis IL, Tu D, Bramwell VH. HER2 and responsiveness of breast cancer to adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med.* 2006 May;18;354(20):2103-11.
- 56 Hortobagyi G. A importância do HER-2/neu no prognóstico e tratamento do câncer de mama. *Masto Magazine Atualização.* 1999; ano 2: 2.
- 57 Muss HB, Thor AD, Berry DA et al. C-erbB-2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 1994;330:1260.
- 58 del Maestro I, Bruzzi P, Nicolò G, Cavazzini G, Contu A, d'Amico M. HER2 expression and efficacy of dose-dense anthracycline-containing adjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *British Journal of Cancer.* 2005 Jun;93:7-14.
- 59 Hitt E. Anthracycline-based therapy improves outcomes in patients with early stage her2-positive breast cancer, presented at SABCS. San Antonio, dec 18 2006.
- 60 Francis G, Beadle G, Thomas S, Mengersen K, Stein S. Evaluation of oestrogen and progesterone receptor status in HER-2 positive breast carcinomas and correlation with outcome. *Pathology.* 2006 Oct;38(5):391-8.
- 61 Baselga, J. Clinical trials of trastuzumab. *Eur. J. Cancer.* 2001 Jan;37(1):18-24.

- 62 Lai H, Lai S, Ma F, Meng L, Trapido E. Prevalence and spectrum de p53 mutations in white Hispanic and non-Hispanic women with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2003 Sep;81(1):53-60.
- 63 Choi DH, Shin DB, Lee MH, Lee DW, Dhandapani D, Carter D. A comparison of five immunohistochemical biomarkers and HER-2/neu gene amplification by fluorescence in situ hybridization in white and Korean patients with early-onset breast carcinoma. *Cancer.* 2003 oct;15:98(8):1587-95.
- 64 Erdem O, Dursun A, Coskun U, Gunel N. The prognostic value of p53 and c-erbB-2 expression, proliferative activity and angiogenesis in node-negative breast carcinoma. *Tumori.* 2005 Jan-Feb;91(1):46-52.
- 65 Lai H, Ma F, Trapido E, Meng L, Lai S. Spectrum of p53 tumor suppressor gene mutations and breast cancer survival. *Breast Cancer Res Treat.* 2004 Jan;83(1):57-66.
- 66 Elledge RM, Allred DC. Prognostic and predictive value of p53 and p21 in breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 1998;52:79.
- 67 Linderholm BK, Lindahl T, Holmberg L et al. The expression of vascular endothelial growth factor correlates with mutant p53 and poor prognosis in human breast cancer. *Cancer Res.* 2001;61(5):2256-70.
- 68 Pedrini JL, Pedrini M, Savaris RF, Machado L, Grudzinski M, Zettler CG. Reassessing tumor markers in local recurrences of breast cancer: A New Insight. *Med Sci Monit.* 2004; 10(12):462-7.
- 69 Dzierzanowski M, Melville KA, Barnes PJ, Macintosh RF, Caines JS, Porter GA. Ductal carcinoma in situ in core biopsies containing invasive breast cancer: correlation with extensive intraductal component and lumpectomy margins. *J Surg Oncol.* 2005 May 1;90(2):71-6.
- 70 Mylonas I, Makowitzky J, Jeschke U, Briese V, Friese K, Gerber B. Expression of Her2/Neu, steroid receptors (ER, PR), Ki67 and p53 in invasive mammary ductal carcinoma associated with ductal carcinoma In Situ Versus invasive breast cancer alone. *Anticancer Res.* 2005 May-Jun;25(3A):1719-23.
- 71 Porter DA, Kroup IE, Nasser S et al. A SAGE (serial analysis of gene expression) view of breast tumor progression. *Cancer Res.* 2001;61:5697-702.
- 72 Porter D, Lahti-Domenici J, Keshaviah A et al. Molecular markers in ductal carcinoma in situ of the breast. *Mol Cancer Res.* 2003;1:362-75.
- 73 Seth A, Kitching R, Landberg G, Xu J, Zubovits J, Burger AM. Gene expression profiling of ductal carcinomas in situ and invasive breast tumors. *Anticancer Res.* 2003;23:2043-51.

- 74 Leong AS, Sormunen RT, Vinyuvar S, Hamdani RW, Suthipintawong C. Biologic markers in DCIS and concurrent infiltrating carcinoma. A comparison of eight contemporary grading systems. *Am. J. Clin. Pathol.* 2002 Apr;117(4):664.
- 75 Konar K, Chatterjee U, Dutta SK. An evaluation of DCIS of breast and its correlation with the grade of associated invasive component. *Indian. J. Pathol. Microbiol.* 2001 Jul; 44(3):297-300.
- 76 Brower ST, Ahmed S, Tartter PI, Bleiweis I, Amberson JB. Prognostic variables in invasive breast cancer: contribution of comedo vs noncomedo *in situ* component. *Ann. Surg. Oncol.* 1995 Sep;2(5):440-4.
- 77 Giardina C, Serio G, Lepore G, Lettini T, Dalena AM, Pennella A et al. Pure DCIS and *in situ* component of DCI of the breast. A preliminary morphometric study. *Exp. Clin. Cancer Res.* 2003 Jun;22(2):279-88.
- 78 Hurd TC, Sneige N, Allen PK, Strom EA, McNess MD, Babiera GV et al. Impact of extensive intraductal component on recurrence and survival in patients with stage I or II breast cancer treated with breast conservation therapy. *Ann. Surg. Oncol.* 1997 Mar;4(2):119-24.
- 79 Crombie N, Rampaul RS, Pinder SE, Elston CW, Robertson IF, Ellis IO. Extent of DCIS within and surrounding invasive primary breast carcinoma. *Br. J. Surg.* 2001 Oct;88(10):1324-9.

CARCINOMA DUCTAL *IN SITU* E O COMPONENTE *IN SITU* DO CARCINOMA INVASOR DE MAMA, SÃO ENTIDADES DIFERENTES?

*Mario Casales Schorr**

*Cláudio Galleano Zettler***

*José Luiz Pedrini****

*Ricardo Francalacci Savaris*****

*Mário B. Wágner******

* Médico Mastologista, Mestrando da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre – FFFCMPA, Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

** Prof. Dr. Cláudio Galleano Zettler da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre – FFFCMPA, Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre e Orientador deste trabalho.

*** Médico Mastologista, mestre em Patologia pela FFFCMPA.

**** Médico Ginecologista, docente titular de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

***** Prof. Dr. Mário Wagner, docente titular de Bioestatística da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre (FFFCMPA).
Rua Sarmento Leite 245 - Porto Alegre, RS, Brasil.
Cep: 90050-170

Os autores do artigo responsabilizam-se pelo seu conteúdo e informam não haver conflitos de interesse que possam influenciar o resultado da pesquisa.

Mario Casales Schorr

Cláudio Galleano Zettler

José Luiz Pedrini

Ricardo Francalacci Savaris

Endereço para correspondência:

Mario Casales Schorr, Rua Lima e Silva nº 331/509. Bairro Cidade Baixa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. CEP 90050-101.

marioschorr@yahoo.com.br

CARCINOMA DUCTAL IN SITU E O COMPONENTE IN SITU DO CARCINOMA INVASOR DE MAMA, SÃO ENTIDADES DIFERENTES?

RESUMO

Introdução: O objetivo desse estudo é comparar a expressão imunoistoquímica do receptor do fator de crescimento c-erb-B2, receptor de estrogênio (RE), receptor de progesterona (RP), medida de proliferação Ki67 e da proteína supressora tumoral p53 no carcinoma ductal *in situ* (CDIS) com o carcinoma invasor com componente *in situ* (CDI+CDIS) de mama. **Métodos:** A expressão imunoistoquímica desses receptores foi analisada em 45 casos de CDIS e em 45 casos de CDI+CDIS. O teste de Mann-Whitney e o índice Kappa foram usados para fazer a análise estatística. **Resultados:** Comparados os CDIS com positividade de RE (39 / 45 casos ou 86,7% e p 0,03 mediana de 80% com intervalo interquartil de 25 – 75% e p 0,01) e de RP (36 / 45 ou 80%, p 0,01 mediana de 70%, intervalo interquartil 25 – 75%, p 0,01) aos componentes *in situ* dos CDI+CDIS quanto à expressão do RE e RP, o CDIS apresentou maior expressão, estatisticamente significativa, em relação aos componentes *in situ* que apresentaram RE (30 / 45 casos ou 66,7%, mediana de 70%) e RP (25 / 45 casos ou 55,6%, mediana de 20%). Não houve diferença significativa entre os outros marcadores e, quando comparados os componentes *in situ* e invasores do mesmo tumor, o índice Kappa mostrou boa concordância para c-erb-B2, Ki67 e p53 e muito boa concordância para RE 0,84 e RP 0,82, na variação da expressão de positividade e negatividade desses marcadores. **Conclusão:** Ocorreu maior expressão dos RE e RP e não houve diferença na expressão do c-erbB-2, Ki67 e p53 nos CDIS em relação aos componentes *in situ* de CDI+CDIS, o que sugere melhor prognóstico com menor risco de invasão. Não houve diferença na expressão desses marcadores entre os componentes *in situ* e invasores do mesmo tumor, indicando a expressão monoclonal da doença.

Palavras-chave: Carcinoma de mama, c-erb-B2, receptor de estrogênio, receptor de progesterona, Ki67, p53, intraductal, invasor com componente *in situ*

ARE CARCINOMA DUCTAL IN SITU AND THE COMPONENT IN SITU OF THE INVASIVE CARCINOMA OF BREAST DIFFERENT ENTITIES?

ABSTRACT

Introduction: The aim of this study is to compare the expression of predictive and prognostic factors of ductal carcinoma *in situ* (DCIS) with infiltrating ductal carcinomas with DCIS component (IDC+DCIS) of breast. **Methods:** The immunohistochemistry expression from c-erb B2 growth factor receptor, estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), the intensity of Ki67 labelling index and of p53 tumoral suppressor were analyzed in 45 cases of DCIS and in 45 cases of IDC+DCIS. The Mann-Whitney test and the Kappa index were used to make the statistical analysis. **Results:** Compared DCIS with ER positivity (39 cases or 86,7%, median of 80%) and PR (36 or 80%, median of 70%) to the intraductal components from IDC+DCIS as for the expression of ER and PR, the DCIS showed higher expression, statistically significant, related to the intraductal component which had presented ER (30 or 66,7%, median of 70%) and PR (25 or 55,6%, median of 20%). It did not have significant difference between the others markers and when compared the intraductal and invasive components from the same tumor, the Kappa value showed good agreement to c-erb-B2, Ki67 e p53 and excellent agreement to RE 0,84 and RP 0,82, in variance from expression of positivity and negativity markers. **Conclusion:** It occurred higher ER and PR expression and it didn't occur difference c-erbB-2, Ki67 and p53 in the DCIS in relation to intraductal components of IDC+DCIS, what it suggests better prognostic with lesser risk of invasion. It did not have difference in the expression of these markers between the intraductal and invasive components from the same tumor, indicating the monoclonal expression of disease.

Key-words: Breast carcinoma, c-erb-B2, estrogen receptor, progesterone receptor, Ki67, p53, intraductal, infiltrating with intraductal component.

INTRODUÇÃO

O câncer de mama tem enorme impacto na saúde da mulher. No Brasil, é a maior causa de morte por câncer entre as mulheres e a segunda neoplasia mais incidente, com estimativa em 2006 de 48.930 casos novos e taxa bruta de 52/100 000.¹ A proporção de mulheres que evoluirão para doença invasora é incerta e pouco compreendida.^{2,3,4} É aceito atualmente que o carcinoma invasor seja derivado de um componente *in situ*, devido tanto a sua coexistência freqüente quanto à semelhança histológica.^{5,6,7,8,9,10}

As alterações genéticas mais importantes durante a carcinogênese ocorrem na transição do tecido normal e proliferativo para o CDIS que, por sua vez, apresenta padrão de mutações e a maioria dos fatores clínicos relevantes similares às do carcinoma invasor.^{11,12,13} Uma forma de avaliar as alterações genéticas e verificar o funcionamento de genes é através da expressão dos marcadores imunoistoquímicos como o c-erb-B2, receptores de estrogênio e progesterona, p53 e ki67. Porém, a concordância na expressão desses marcadores é incompleta.¹⁴

O c-erb-B2 pertence à família dos receptores do fator de crescimento tirosina-cinase tipo I.¹⁵ Está implicado no surgimento do câncer de mama e é traduzido em uma glicoproteína expressa em níveis baixos nas células epiteliais e mioepiteliais da mama. É um mecanismo de promoção tumoral que influencia na resistência à terapia sistêmica e vigilância imunológica do hospedeiro. Reflete mau prognóstico.^{16,17,18,19,20, 21,22}

Os RE e RP pertencem a uma superfamília de receptores hormonais esteróides.¹⁸ As pacientes com RE positivo têm intervalo livre de doença maior que as RE negativo, 10% em 5 anos.^{23,24} A presença do RP, devido à estimulação estrogênica, pode indicar resposta ao estrogênio intacta. Os tumores receptores hormonais positivos são geralmente bem diferenciados, têm índice de proliferação baixo, metastatizam menos para cérebro e fígado²⁵ e apresentam maior chance de resposta à terapia hormonal.²⁶ Os receptores negativos são geralmente de grau III de Scarff-Bloom e Richardson, com índice de proliferação alto, recorrem em sítios

viscerais, apresentam respostas a hormonioterapia inferiores a 10%²⁷ e com menor chance de resposta à tratamento hormonal.²⁶

O Ki67 é um gene que codifica um antígeno nuclear ligado ao ciclo celular. É um marcador de proliferação celular usado como fator prognóstico do câncer de mama.²⁸ A expressão imunohistoquímica do Ki67 correlaciona-se diretamente com o grau histológico e com o índice mitótico, também está significativamente correlacionada com a positividade do c-erbB-2, à idade jovem de aparecimento do tumor,²⁹ alta fração celular na fase S³⁰ e com a imunonegatividade do receptor de estrogênio.²⁸

Entre os genes de alta penetrância, o p53 foi o primeiro gene supressor tumoral a ser ligado à hereditariedade no câncer de mama. É uma das mutações genéticas mais encontradas em todos os cânceres humanos, em aproximadamente 50%³¹. Sua ativação induz o reparo do DNA e a apoptose, se ocorrer a permanência do dano.¹⁷ A proporção de tumores de mama com inativação da proteína p53, pela deleção ou mutação do gene p53, é bastante variável entre os estudos, nas diferentes populações e etnias.^{32,33} Mutações do p53 de diferentes tipos, localizada em diversos éxons e de número variável têm diferentes efeitos na sua atividade biológica.³⁴

Recentemente, alguns autores avaliaram carcinomas ductais in situ (CDIS) e carcinomas invasores com componente in situ (CDI+CDIS) e concluíram quanto à semelhança morfológica entre os componentes in situ e invasor no mesmo tumor. Mas houve diferença entre o CDIS comparado ao componente in situ do carcinoma invasor.³⁵ Mylonas et al. compararam os CDI aos CDI+CDIS através de marcadores imunohistoquímicos. Verificou a semelhança entre o carcinoma invasor e seu componente in situ e maior expressão desses marcadores no CDI.³⁶ O objetivo deste trabalho é comparar cinco marcadores imunohistoquímicos entre CDIS e CDI+CDIS de mama.

MÉTODOS

Pacientes

Foram selecionados 45 casos de CDI+CDIS e 45 de CDIS, confirmados histologicamente após revisão das lâminas pelos investigadores, entre 1995 e 2000, sendo retirados os blocos de parafina do arquivo do Serviço de Patologia do Hospital Nossa Senhora da Conceição, de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Foram incluídas mulheres de 40 a 90 anos, portadoras de CDIS ou CDI+CDIS com presença de qualquer proporção do componente in situ, submetidas a tratamento cirúrgico primário. Excluíram-se homens, gestantes, portadoras de carcinomas bilaterais sincrônicos, carcinoma inflamatório, carcinoma invasor sem componente in situ e as submetidas a tratamento sistêmico primário do câncer de mama.

Imunoistoquímica

Os blocos de parafina foram cortados em micrótomo rotativo, obtendo-se 6 cortes com espessura de 3 micrômetros, sendo cinco preparados em organossilano. As lâminas para imunoistoquímica foram incubadas a 60°C por 20 minutos para remoção da parafina e, então, imersas por 10 minutos em xilol, seguidas por 5 imersões seqüenciais em álcool absoluto. Para recuperação dos antígenos, foram colocadas em citrato de sódio, pH 6, em temperatura ambiente e levadas à fervura no forno de microondas por 10 minutos. Após voltar à temperatura ambiente, as lâminas foram lavadas 2 vezes por 5 minutos em solução tampão PBS (pH 7,2-7,8) e incubadas em peróxido de hidrogênio 3% por 10 minutos. Após o bloqueio dos sítios não específico com soro normal de cavalo (DAKO A/S, Glostrup, Dinamarca) em PBS, de acordo com instruções do fabricante. As lâminas foram lavadas em água destilada 2 vezes por 5 minutos em solução de PBS. Os anticorpos primários foram incubados de acordo com as diluições: p53 (DAKO D07, Glostrup, Dinamarca) 1:200, receptor de estrogênio (Novocastra, Newcastle–United Kingdom) 1:200,

receptor de progesterona (Novocastra, Newcastle–United Kingdom) 1:100, c-erb-B2 (DAKO policlonal, Glostrup, Dinamarca) 1:500 e Ki67 (DAKO, Glostrup, Dinamarca) 1:300. Após 12 horas de incubação, foram lavadas 2 vezes por 5 minutos em solução tampão PBS e, novamente, incubadas em câmara úmida por 30 minutos com anticorpo secundário (anticorpo biotilado de camundongo, anti IgG, sistema LSAB2 DAKO, DAKO A/S, Dinamarca) e em complexo strepto-avidina biotina pré-formado (Strepto ABC, sistema LSAB2 DAKO, DAKO A/S, Dinamarca), para detectar o anticorpo primário, conforme instrui o fabricante. As lâminas foram contracoradas com hematoxilina, montadas e analisadas em microscópio óptico.

As lâminas coradas por imunistoquímica foram submetidas a métodos padronizados e tiveram controles externos positivos e negativos previamente conhecidos. O preparo das lâminas foi realizado de uma única vez e em laboratório de referência. Três investigadores diferentes (MCS, CGZ, JLP) avaliaram as lâminas de forma cega e independente. Nos casos de discordância houve reavaliação até o consenso. A expressão de positividade de cada marcador foi: RE (clone 1D5), RP (clone PgR 636), Ki67 (clone MIB-1) com 10% ou mais dos núcleos corados em 10 campos de grande aumento (CGA),^{37,38} c-erb-B2 (policlonal) com escore 3 de positividade, com forte e completa coloração amarronzada da membrana celular em mais de 10% das células neoplásicas. As com coloração citoplasmática escore 1, de coloração fraca em parte da membrana em mais de 10% das células e escore 2, com coloração fraca/moderada completa em mais de 10% das células, foram consideradas negativas.³⁹ O p53 (clone DO-7) foi considerado positivo quando 5% ou mais dos núcleos coraram em 10 CGA⁴⁰

Comitê de Ética e Análise Estatística

O projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética do Hospital Nossa Senhora da Conceição de Porto Alegre e da Fundação Faculdade de Ciências Médicas de Porto Alegre. Para comparar a expressão imunistoquímica entre os grupos *Carcinoma invasor com componente in situ vs Carcinoma in situ*, esperando uma magnitude na diferença das médias equivalente a um tamanho de efeito (diferença de médias/desvio padrão) maior ou igual a 0,7, com poder estatístico de 90% (beta=0,10 e alfa=0,05), foi calculado um tamanho de amostra de 45 pacientes

por grupo (total de 90 pacientes). Os dados quantitativos, referentes aos marcadores imunoistoquímicos, foram descritos por média e desvio padrão e, na presença de assimetria, por mediana e amplitude interquartil (percentil 25 a 75). As comparações entre médias foram realizadas pelo teste de Student para amostras independentes. Fragmentos específicos do grupo invasor (componente in situ vs componente invasor) foram comparados por teste de Student para amostra emparelhada. Adicionalmente, foram obtidos intervalos de confiança de 95% para medidas de força de associação entre médias (diferença de médias padronizadas) e entre proporções (risco relativo). O nível de significância geral do estudo foi fixado em 5%. Os dados foram analisados com o auxílio do programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 12.0. © 2007 SPSS Inc. All rights reserved. SPSS Inc. Headquarters, 233 S. Wacker Drive, 11th floor Chicago, Illinois 60606. Foi utilizado o índice Kappa para análise interobservador (0,85).

RESULTADOS

Quando comparados os componentes intraductal e invasor do mesmo tumor, o índice de concordância foi significativo para todos os marcadores (Tabela 1). A comparação entre os CDIS e o componente in situ dos CDI+CDIS mostrou concordância na expressão dos marcadores c-erb-B2, Ki67 e p53, mas houve diferença significativa na expressão dos RE e RP nessas amostras, com maior expressão nos CDIS (Tabela 2). Os achados clínicos, laboratoriais e patológicos estão resumidos na tabela 3.

Quando comparados os CDIS com os componentes in situ dos CDI+CDIS, quanto ao RE e RP, foi observada diferença significativa considerando a positividade e o percentual de positividade desses marcadores. Salienta-se que os valores, tanto do RE quanto do RP, foram maiores no CDIS e que o tamanho da diferença foi maior nos RP.

Tabela 1 – Comparação dos marcadores tumorais e expressão imunoistoquímica entre os componentes intraductal e invasor do CDI.

Marcadores tumorais ^[1]	Carcinoma invasor		P ^[2]
	Componente in situ	Componente invasor	
	n=45	n=45	P
c-erb-B2, escore 3, n ^o (%) de casos positivos	15 (33.3)	16 (35.6)	0.99
c-erb-B2, % positividade celular	2 (1 a 3)	2 (1 a 3)	0.73
Ki67, positividade > 10%, n ^o (%) de casos positivos	19 (42.2)	20 (44.4)	0.99
Ki67, % positividade nuclear	5 (3 a 20)	5 (1 a 20)	0.57
RE, positividade > 10%, n ^o (%) de casos positivos	30 (66.7)	33 (73.3)	0.25
RE, % positividade nuclear	70 (0 a 80)	60 (3 a 80)	0.55
RP, positividade > 10%, n ^o (%) de casos positivos	25 (55.6)	25 (55.6)	0.99
RP, % positividade nuclear	20 (0 a 70)	20 (0 a 70)	0.98
p53, positividade > 5%, n ^o (%) de casos positivos	17 (37.8)	19 (42.2)	0.69
p53, % positividade nuclear	0 (0 a 20)	0 (0 a 15)	0.42

[1]: abreviatura: c-erbB-2: receptor do fator de crescimento epitelial HER2/neu; Ki67: medida de proliferação celular; RE: receptor de estrogênio; RP: receptor de progesterona; p53: receptor nuclear da proteína do gene supressor tumoral p53.

[2]: significância estatística entre componente in situ vs componente invasor do carcinoma invasor.

Tabela 2 – Comparação dos marcadores tumorais e expressão imunoistoquímica entre o componente in situ do CDI versus CDIS quanto à positividade e percentual de positividade – números (percentagens)

Marcadores tumorais ^[1]	Carcinoma invasor	Carcinoma in situ	P ^[2]
	Componente in situ		
	n=45	n=45	P
c-erb-B2, escore 3, n ^o (%) de casos positivos	15 (33.3)	16 (35.6)	0.82
c-erb-B2, % positividade nuclear celular	2 (1 a 3)	2 (1 a 3)	0.73
Ki67, positividade > 10%, n ^o (%) de casos positivos	19 (42.2)	17 (37.8)	0.67
Ki67, % positividade nuclear	5 (3 a 20)	5 (1 a 10)	0.16
RE, positividade > 10%, n ^o (%) de casos positivos	30 (66.7)	39 (86.7)	0.03
RE, % positividade nuclear	70 (0 a 80)	80 (70 a 90)	0.01
RP, positividade > 10%, n ^o (%) de casos positivos	25 (55.6)	36 (80.0)	0.01
RP, % positividade nuclear	20 (0 a 70)	70 (25 a 85)	0.01
p53, positividade > 5%, n ^o (%) de casos positivos	17 (37.8)	13 (28.9)	0.37
p53, % positividade nuclear	0 (0 a 20)	0 (0 a 8)	0.49

[1]: abreviatura: c-erbB-2: receptor do fator de crescimento epitelial HER2/neu; Ki67: medida de proliferação celular; RE: receptor de estrogênio; RP: receptor de progesterona; p53: receptor nuclear da proteína do gene supressor tumoral p53.

[2]: significância estatística entre componente in situ do carcinoma invasor vs carcinoma ductal in situ.

Tabela 3 – Comparação de variáveis selecionadas entre o carcinoma ductal invasor versus carcinoma in situ.

Características	Carcinoma in situ n=45	Carcinoma invasor n=45	P ^[1]
Idade (média±EPM) ^[2]	63,2 ± 10,8	61,31 ± 12,3	0,45
Tipo de cirurgia			-
tumorectomia	39	25	-
Mastectomia radical	6	20	-
modificada			
total	45	45	
Estadiamento cirúrgico			-
Estadio I		6 (16,22%)	-
Estádio II		21 (56,75%)	-
Estádio III		10 (27,02%)	-
Total		37	
Não disponível		8	
Condição axilar			-
Positiva	0	20 (51,28%)	-
Negativa	18	19 (48,72%)	-
Sem esvaziamento	27	6	
Tamanho do tumor			
T1		14 (31,81%)	-
T2		21 (47,5%)	-
T3		8 (18,18%)	-
T4		1 (2,27%)	-
Não disponível	NA ³	1	

[1]: significância estatística entre o carcinoma in situ vs o carcinoma invasor.

[2]: abreviatura: EPM erro padrão médio.

[3]: não se aplica. Carcinoma in situ (T_{is}).

DISCUSSÃO

Os dados disponíveis indicam a semelhança na expressão dos marcadores imunohistoquímicos c-erb-B2, RE, RP, p53 e Ki67 em CDI+CDIS e CDIS primários de mama. Além disso, vários estudos³ sugerem que o carcinoma intraductal de alto grau, tipo comedo, seja biologicamente mais agressivo e evolua mais rapidamente para invasão. O estudo dos marcadores tumorais visa proporcionar o melhor entendimento da biologia dessas lesões e auxiliar na sua classificação.⁴¹

Foi comparada a concordância na expressão desses marcadores do CDIS em relação ao componente in situ do CDI. A menor expressão de RE e RP no componente in situ do carcinoma invasor pode sugerir que grupamentos clonais mais agressivos tenham sido selecionados. Além disso, a comparação entre o componente in situ e invasor do mesmo tumor demonstrou poucas mudanças, sem diferenças significativas, apresentando 100% de concordância quanto à positividade do RE. A semelhança encontrada entre os marcadores examinados no CDI+CDIS

sugerem tratar-se de uma mesma população celular clonal em fases diferentes de crescimento e o componente *in situ* pode representar células fenotípica e genotipicamente já malignas. Esses achados são corroborados por diversos estudos de avaliação genética e de expressão de marcadores imunoistoquímicos.^{6,11,12,13,14,42,43,44,45}

c-erb-B2

Nossos dados mostraram 15 casos positivos no CDIS (33,3%), mediana no escore 2 e 16 casos (35,6%) no carcinoma invasor, tanto no componente *in situ* quanto no componente invasor correspondente, com mediana no escore 2, o que evidencia a semelhança entre os componentes, demonstrada pela boa concordância do índice Kappa.

Os índices encontrados no componente invasor apresentaram dados semelhantes aos de Park et al⁴², com superexpressão em torno de 30% dos carcinomas ductais de mama. Em relação à semelhança entre os componentes *in situ* e invasores do mesmo tumor, os dados diferem de Tsai⁴⁶ que encontrou maior superexpressão no componente *in situ* do carcinoma ductal do que no componente invasor, mas concordam com Allred,¹⁴ que demonstrou boa concordância entre os componentes invasores e intraductais. Iglehart⁴⁷ refere a ocorrência precoce da superexpressão do *c-erb-B2* (29%) e sua manutenção durante a progressão da doença, com presença tanto no componente *in situ* quanto no invasor. Já Park⁴¹ encontrou diferença significativa na imunoexpressão e na amplificação gênica do *c-erbB-2* entre o CDIS (50%) e em relação ao componente *in situ* do CDI (28,5%). Houve concordância de 98,5% e 99,3% na expressão do *c-erbB-2* nos componentes *in situ* e invasores no mesmo tumor usando FISH e IIQ, respectivamente.

Os achados dos diversos estudos são discordantes quanto à imunoexpressão do *c-erbB-2* em CDIS quando comparados aos componentes *in situ* que coexistam com CDI, diferença não encontrada em nosso estudo, que também mostrou semelhança entre o componente *in situ* e invasor do mesmo tumor, de acordo com a maioria dos estudos que comparam os dois componentes na mesma lesão, fortalecendo o conceito de evolução clonal da doença^{11,12}

Receptores de estrogênio e progesterona

Houve expressão do RE em 39 casos de CDIS (86,7%), mediana de 80%, com diferença significativa em relação ao componente in situ do CDI com 30 casos (66,7%) e mediana de 70%. O componente invasor apresentou positividade em 33 (73,3%) pacientes com mediana de 60%, com muito boa concordância do índice Kappa. A expressão do RP no CDIS ocorreu em 36 casos (80%) e mediana de 70%, com diferença significativa em relação ao componente in situ do CDI com 25 (55,6%), mediana de 20%. O componente invasor foi expresso em 25 casos (55,6%), com mediana de 20% com muito boa concordância do Kappa entre os componentes do CDI, demonstrando sua semelhança.

Os achados são significativamente maiores do que os de Allred¹⁴ que encontrou expressão em 70% dos CDIS. É também maior que os valores encontrados por Pedrini⁴⁸ que comparou o CDI a sua recidiva local e encontrou 53% de positividade para o RE. Já Idvall⁴⁹ encontrou números semelhantes aos nossos, com expressão em 83% dos casos para o RE e 87% para o RP no CDI. Há grande discordância na estimativa da expressão dos receptores hormonais, nossos dados concordam com a maioria dos estudos e conclui-se que a diferença entre o CDIS *versus* componente in situ do CDI seja verdadeira.

Ki67

Ocorreu superexpressão em 17 (37,8%) pacientes com CDIS (mediana de 5%). O componente in situ do CDI foi superexpresso em 19 (42,2%), mediana de 5%, e o componente invasor apresentou 20 casos positivos (44,4%), mediana de 5% e boa concordância do Kappa quando comparados os componentes do mesmo tumor. Imamura⁵⁰ relata menor proliferação celular nos CDIS em relação aos componentes in situ e invasores de tumores sincrônicos. De acordo com nossos achados, Hoque⁵¹ revelou similaridade entre os componentes do carcinoma sincrônico e também do CDIS. A discordância dos achados de proliferação celular possivelmente se relaciona aos diferentes métodos e pontos de corte utilizados para sua determinação.

p53

Ocorreu superexpressão em 13 casos de CDIS (28,9%), mediana de 0%. O componente in situ esteve superexpresso em 17 (37,8%), mediana de 0% e o componente invasor mostrou 19 casos positivos (42,2%) e mediana de 0%. Houve boa concordância do índice Kappa entre esses os componentes do CDI e também sua semelhança com o CDIS.

Davidoff⁵² estudou a superexpressão do p53 em diferentes estágios de progressão e mostrou 13% no CDIS e 17% no carcinoma sincrônico, demonstrando que as mutações ocorrem em fases precoces da doença e são mantidas durante a progressão do CDIS até a doença metastática. Clahsen⁵³ encontrou a proteína p53 inativa em 20-40% dos cânceres de mama, pela deleção ou mutação do gene. Para Rudas⁵⁴ o p53 foi superexpresso em 25% dos CDIS. Burnstein⁵⁵ conclui que esses marcadores moleculares geralmente espelham a sua expressão no componente invasor correspondente. Kang⁵⁶ encontrou alterações genéticas em 36,8% dos casos de CDIS, em 33,3% no componente in situ do CDI e em 34,1% dos casos de carcinoma invasor isolado, não mostrando mutações específicas associadas à invasão. Encontramos achados similares aos destacados, corroborando o conceito de similaridade entre as lesões in situ e invasora.

CONCLUSÃO

Ocorre maior expressão dos RE e RP no CDIS de mama em relação ao componente in situ do CDI, o que pode significar melhor prognóstico com menor risco de invasão. Não houve diferença na expressão desses marcadores entre os componentes in situ e invasor do mesmo tumor, sugerindo uma evolução monoclonal da doença. Quanto ao c-erbB-2, Ki67 e p53 não houve diferença entre o CDIS e o componente in situ do CDI e também entre os componente in situ e invasor do mesmo tumor. São necessários mais estudos para avaliar o significado dessas diferenças e também a validade e reprodutibilidade das técnicas de coloração imunoistoquímica utilizadas.

REFERÊNCIAS

01. Brasil. Ministério da Saúde. câncer de mama documento de consenso. Brasília: Instituto Nacional do Câncer - INCA, 2005.
02. Warnberg F, Nordgren H, Bergkvist L, Holmberg L. Tumour markers in breast carcinoma correlate with grade rather than with invasiveness. *Br J Cancer*. 2001; 85(6):869-74.
03. Leonard GD, Swain SM, Ductal Carcinoma in situ, complexities and challenges, review. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*. 2004; 96(12):906-920.
04. Olivotto I, Levine M. Clinical Practice Guidelines for the Care and Treatment of Breast Cancer: The Management of Ductal Carcinoma in situ. *cmaj* 2001;165:912-3.
05. Dzierzanowski M, Melville KA, Barnes PJ, Macintosh RF, Caines JS, Porter GA. Ductal carcinoma in situ in core biopsies containing invasive breast cancer: correlation with extensive intraductal component and lumpectomy margins. *J Surg Oncol*. 2005 may 1;90(2):71-6.
06. Moriya T, Silverberg SG. Intraductal carcinoma of the breast. a comparison of pure noninvasive tumor with those including different proportions of infiltrating carcinoma. *Cancer*. 1994; 74: 2972.
07. Lampejo OT, Barnes DM, Smith P, Millis RR. Evaluation of infiltrating ductal carcinomas with a DCIS component: correlation of the histologic type of the in situ component with grade of the infiltrating component. *Semin Diagn Pathol*. 1994 Aug; 11(3): 215-22.
08. Susnik B, Worth A, Palcic B, Poulin N, Leriche J. Differences in quantitative nuclear features between DCIS with and without accompanying invasive carcinoma in the surrounding breast. *Anal Cell Pathol*. 1995 Jan; 8(1):39-52.
09. Leong AS, Sormunen RT, Vinyuvar S, Hamdani RW, Suthipintawong C. Biologic markers in DCIS and concurrent infiltrating carcinoma. A comparison of eight contemporary grading systems. *Am J Clin Pathol*. 2002 Apr;117(4):p. 664.
10. Konar K, Chatterjee U, Dutta SK. An evaluation of DCIS of breast and its correlation with the grade of associated invasive component. *Indian J Pathol Microbiol*. 2001 Jul; 44(3): 297-300.
11. Porter DA, Kroup IE, Nasser S et al. A sage (serial analysis of gene expression) view of breast tumor progression. *Cancer Res*. 2001;61:5697-702.

12. Porter D, Lahti-Domenici J, Keshaviah A et al. Molecular markers in ductal carcinoma in situ of the breast. *Mol Cancer Res.* 2003; 1: 362-75.
13. Seth A, Kitching R, Landberg G, Xu J, Zubovits J, Burger AM. Gene expression profiling of ductal carcinomas in situ and invasive breast tumors. *Anticancer Res.* 2003; 23: 2043-51.
14. Allred DC. Biologic characteristics of ductal carcinoma in situ. in: Silverstein MJ. (ed.). *Ductal carcinoma in situ of the breast.* 2. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. p. 37-48.
15. Rajkumar T, Gullick WJ. The type 1 growth factor receptors in human breast cancer. *Breast cancer res treat.* 1994; 29:1.
16. Allred DC, Harvey JM, Bernardo M, Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol.* 1998;11(2): 155-68.
17. Cotran RS, Kumar V, Collins t. Robbins pathologic basis of disease. *Basic Pathology.* Philadelphia: WB Saunders; 1999.
18. Harris JR. *Diseases of the breast*, 3rd edition. Philadelphia (pa): Lippincott, Williams & Wilkins; 2004.
19. Del maestro L, Bruzzi P, Nicolò G, Cavazzini G, Contu A, D'amico M. HER2 expression and efficacy of dose-dense anthracycline-containing adjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *British Journal of Cancer.* 2005 Jun; 93:7-14.
20. Hitt E. Anthracycline-based therapy improves outcomes in patients with early stage HER2-positive breast cancer, presented at SABCS. San Antonio, 2006 Dec 18.
21. Francis G, Beadle G, Thomas S, Mengersen K, Stein S. Evaluation of oestrogen and progesterone receptor status in HER-2 positive breast carcinomas and correlation with outcome. *Pathology.* 2006 Oct; 38(5): 391-8.
22. Baselga J. Clinical trials of trastuzumab. *Eur. J. Cancer.* 2001 Jan; 37(1):18-24.
23. Dunnwald LK, Rossing MA, Li CI. Hormone receptor status, tumor characteristic and prognosis—a prospective cohort of breast cancer patients. *Breast Cancer Res.* 2007 Jan; 19:9(1):r6.
24. Clark GM, Mcguire WL. Steroid receptors and other prognostic factors in primary breast cancer. *Semin Oncol.* 1988; 15: 20.
25. Schimitt FC, Kirmaid PA, Campos PF, Bacchi CE. Contribuição do estudo IHC para o diagnóstico anatomopatológico. *Rev Hosp Clin Fac Méd.* 1992; 47:1-5.

26. Arpino G, Weiss H, Lee AV, Schiff R, de Placido S, Osborne CK, Elledge RM. Estrogen receptor-positive, progesterone receptor-negative breast cancer: association with growth factor receptor expression and tamoxifen resistance. *J Natl Cancer Inst.* 2005 Sep; 7:97(17):1254-61.
27. Cooke T, Reeves J, Lannigan A et al. The value of the human epidermal growth factor receptor 2 (HER 2) as a prognostic marker. *Eur J Cancer.* 2001; 37(1): 3-10.
28. Tan PH, Bay BH, Yip G, Selvarajan S, Tan P, Wu J et al. Immunohistochemical detection of ki67 in breast cancer correlates with transcriptional regulation of genes related to apoptosis and cell death. *Mod Pathol.* 2005 Mar;18(3):374-81.
29. Ansquer Y, Mandelbrot L, Lehy T, Salomon L, Dhainaut C, Madelenat P. Expression of BRCA1, HER-1 and HER-2 in sporadic breast cancer and relationships to other clinicopathological prognostic features. *Anticancer Res.* 2005 nov-dec;25(6c):4535-41.
30. Martinez-Arribas F, Nunez MJ, Piqueras V, Lucas AR, Sanchez J, Tejerina A, Schneider J. flow cytometry vs. Ki67 labelling index in breast cancer: a prospective evaluation of 181 cases. *Anticancer Res.* 2002 Jan-Feb;22(1a):295-8.
31. Dumitrescu RG, Cotarla I. Understanding breast cancer risk – do we stand in 2005? *J Cell Mol Med.* 2005 Jan-Mar; 9(1):208-21.
32. Lai H, Lai S, Ma F, Meng L, Trapido E. Prevalence and spectrum de p53 mutations in white hispanic and non-hispanic women with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2003 Sep; 81(1):53-60.
33. Choi DH, Shin DB, Lee MH, Lee DW, Dhandapani D, Carter D. A comparison of five immunohistochemical biomarkers and HER-2/neu gene amplification by fluorescence in situ hybridization in white and korean patients with early-onset breast carcinoma. *Cancer.* 2003 Oct; 15:98(8):1587-95.
34. Lai H, Ma F, Trapido E, Meng L, Lai S. Spectrum of p53 tumor suppressor gene mutations and breast cancer survival. *Breast Cancer Res Treat.* 2004 Jan;83(1):57-66.
35. Giardina C, Serio G, Lepore G, Lettini T, Dalena AM, Pennella A et al. Pure DCIS and in situ component of DCI of the breast. a preliminary morphometric study. *Exp Clin Cancer Res.* 2003 Jun; 22(2):279-88.
36. Mylonas I, Makovitzky J, Jeschke U, Briese V, Friese K, Gerber B. Expression of HER2/neu, steroid receptors (ER, PR), ki67 and p53 in invasive mammary ductal carcinoma associated with ductal carcinoma in situ versus invasive breast cancer alone. *Anticancer Res.* 2005 May-Jun; 25(3a):1719-23.

37. Ferrero-Pous M, Trassard M, Lê Doussal V et al. Comparison do enzyme immunoassay and immunohistochemical measurements of estrogen and progesterona receptors in breast cancer patients. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2001; 9(3): 267-75.
38. Pinto AE, Andre S, Laranjeira C, Soares J. Correlations of cell cycle regulators (p53, p21, prb and mdm2) and c-erbb-2 with biological markers of proliferation and overall survival in breast cancer. *Pathology*. 2005 feb;37(1):45-50.
39. Jacobs TW, Gown AM, Yazijih et al. Specificity of herceptest in determining HER-2/neu status of breast cancers using the united states food and drug administration-approved scoring system. *J Clin Oncol*, 1999; 17(7):1983-7.
40. Pfister C, Moore L, Allard P, Larue H, Lacombe L, Tetu B et al. Predictive value of cell cycle markers p53, mdm2, p21, and Ki-67 in superficial bladder tumor recurrence. *J Urol*. 2005 aug;174(2):487.
41. Silverstein MJ, The university of southern California/Van Nuys prognostic index. in: Silverstein MJ, editor. *Ductal carcinoma in situ of the breast*. 2nd ed. Philadelphia (pa): Lippincott, Williams & Wilkins; 2002. p. 459–73.
42. Park K, Han S, Kim HJ, Kim J, Shin E. HER2 status in pure ductal carcinoma in situ and in the intraductal and invasive components of invasive ductal carcinoma determined by fluorescence in situ hybridizations and immunohistochemistry. *Histopathology*. 2006 May;48(6):702-7.
43. Radford DM, Phillips NHJ, Fair KL, Ritter JH, Holt M, Donis-Keller H. Allelic loss and the progression of breast cancer. *Cancer Res*. 1995; 55: 5180-3.[erratum: cancer res. 1996; 56: 935].
44. Stratton MR, Collins N, Lakhani SR, Sloane JP. Loss of heterozygosity in ductal carcinoma in situ of the breast. *J Pathol*. 1995;.175:195-201.
45. Ma SJ, Salunga R, Tuggle JT et al. Gene expression profiles of human breast cancer progression. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100: 5974-9.
46. tsai KS, Hou MF, Lin HJ, Chai CY, Liu CS, Huang TK. Expression of HER-2/neu oncoprotein in familial and non-familial breast cancer. *Kaohsing J Med Sci*. 2001; 17(2):64-76.
47. Iglehart JD, Kraus MH, Langton BC, Huper G, Kerns BJ, Marks JR. Increased erbb-2 gene copies and expression in multiple stages of breast cancer. *Cancer Res*. 1990; 50(20): 6701-7.
48. Pedrini JL, Pedrini M, Savaris RF, Machado L, Grudzinski M, Zettler CG. Reassessing tumor markers in local recurrences of breast cancer: A New Insight. *Med Sci Monit*. 2004; 10(12):462-7.

49. Idvall I, Ringberg A, Anderson H, Akerman M, Ferno M. Histopathological and cell biological characteristics of ductal carcinoma in situ of the breast – a comparison between the primary DCIS and subsequent ipsilateral and contralateral tumours. *Breast*. 2005 Aug;14(4):290-7.
50. Imamura I, Haga S, Shimizu T, Watanabe O, Aiba M. Prognostic significance of MIB1 determined proliferative activities in intraductal components and invasive foci associated with invasive ductal breast carcinoma. *Br J Cancer*. 1999; 79:172-8.
51. Hoque A, Menter DG, Sahin AA, Sneige N, Lippman SM. No increased Ki67 expression in ductal carcinoma in situ associated with invasive breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001 feb; 10(2):153-4.
52. Davidoff AM, Kerns BJ, Iglehart JD, Marks JR. Maintenance of p53 alterations throughout breast cancer progression. *Cancer Res*. 1991 May; 51(10):2605-10.
53. Clahsen PC, van Del Velde CJF, Duval C et al. P53 protein accumulation and response to adjuvant chemotherapy in premenopausal women with node-negative early breast cancer. *J Clin Oncol*. 1998; 16:470-9.
54. Rudas M, Neumayer R, Gnant MFX, Mittelbock M, Jakesz R, Reiner A. P53 protein expression, cell proliferation and steroid hormone receptors in ductal and lobular in situ carcinomas of the breast. *Eur J Cancer*. 1997; 33:39-44.
55. Burnstein HJ, Polyak K, Wong JS, Lester SC, Kaelin M. Ductal carcinoma in situ of the breast. *N Engl J Med*. 2004; 350:1430-41.
56. Kang JH, Kim SJ, Noh DY, Choe KJ, Lee ES, Kang HS. The timing and characterization of p53 mutations in progression from atypical ductal hyperplasia to invasive lesions in the breast cancer. *J Mol Med*. 2001 Nov; 79(11):648-55.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)