

FUNDAÇÃO FACULDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS MÉDICAS DE  
PORTO ALEGRE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

MESTRADO EM PATOLOGIA GERAL E EXPERIMENTAL

ASSOCIAÇÃO ENTRE METÁSTASES ÓSSEAS E FATORES PROGNÓSTICOS NO  
CÂNCER DE MAMA INVASIVO

Carlos Eduardo Anselmi

Porto Alegre

2007

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

ASSOCIAÇÃO ENTRE METÁSTASES ÓSSEAS E FATORES PROGNÓSTICOS NO  
CÂNCER DE MAMA INVASIVO

Mestrando: Carlos Eduardo Anselmi

Dissertação de Mestrado em Patologia Geral e Experimental da  
Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre

Orientador: Profª. Dra. Márcia Silveira Graudenz

Porto Alegre

2007

## AGRADECIMENTOS

À professora e orientadora Márcia Silveira Graudenz pelo incentivo e pela paciência durante a execução deste trabalho.

À doutora Maira Caleffi pelos comentários e críticas aos resultados.

À Maria Cristina Barcellos, Mac, pela paciência, pela ajuda, pelo carinho e pelo apoio diário.

Ao Doutor Gustavo Py Gomes da Silveira, pelo entusiasmo, pelas críticas e pelo apoio diante de resultados iniciais intrigantes.

Ao Doutor Cláudio Galleano Zettler pelos conselhos antes e durante o mestrado, auxiliando a melhor compreender o projeto

Às acadêmicas da FFFCMA, Ana Lia Mendes Moreira e Daiane Mendonça Gottlieb, cuja ajuda foi inestimável na compilação do banco de dados.

Ao amigo e colega Neivo da Silva Júnior, pelos comentários e críticas ao trabalho, pela ajuda com a revisão bibliográfica e com a rotina do serviço na minha ausência

À amiga, prima e colega Daniela Duarte Fernandes, pelo apoio e pelas críticas ao trabalho.

À doutora Alice de Medeiros Zelmanowicz pelos comentários e críticas sobre os resultados da análise estatística.

Aos funcionários do arquivo médico do Hospital Dom Vicente Scherer, pelo excelente trabalho prestado na busca dos prontuários.

Às técnicas Vilméia e Emily do Laboratório de Patologia do Complexo Hospitalar Santa Casa pelo auxílio com as técnicas de imunohistoquímica.

Aos meus pais, Osvaldo Estrela Anselmi e Cléia Duarte Anselmi, que sempre foram, são e serão fonte de inspiração e de auxílio em todos os momentos.

## SUMÁRIO

Lista de tabelas .....	6
Introdução .....	7
Revisão da literatura .....	10
Objetivo .....	19
Bibliografia da revisão da literatura .....	20
Artigo em Português .....	26
Resumo do artigo em Português .....	27
Artigo em Inglês .....	45
Abstract do artigo em Inglês .....	46
Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa .....	62

## LISTA DE TABELAS

Artigo em português

Tabela 1: Anticorpos primários usados na imunoistoquímica ..... 32

Tabela 2: Características das pacientes ..... 35

Tabela 3: Fatores preditivos de metástases ósseas ..... 37

Artigo em inglês

Table 1: Characteristics of the patients ..... 52

Table 2: Predictive factors for bone metastasis ..... 54

## INTRODUÇÃO

O câncer de mama é reconhecido mundialmente como um problema de saúde pública. Sua incidência e conseqüente mortalidade têm aumentado significativamente nas últimas décadas. Estima-se que em 2006 a incidência de novos casos será de 51,66 por 100.000, totalizando 48.930 pacientes. No Rio Grande do Sul, a incidência estimada de novos casos em 2006 é de 88,81 casos por 100.000, num total de 4.960 mulheres(1). A Sociedade Americana de Oncologia estima que em 2006, 212.920 mulheres serão diagnosticadas e 40.970 morrerão por câncer de mama invasivo (estádios I-IV)(2).

O controle loco-regional do câncer de mama é fundamentalmente cirúrgico, com a associação de radioterapia e quimioterapia neo e/ou adjuvante. Essas modalidades terapêuticas são suficientes em pacientes com doença em estágio inicial e com mínimo risco de recorrência. As pacientes com doença operável com baixo ou alto risco de recorrência e as pacientes com doença não operável têm entre as recomendações terapêuticas a terapia hormonal, dependendo da presença de receptores de estrogênio no tecido tumoral(3).

Metástases ósseas ocorrem em 8% das pacientes com carcinoma de mama, e em aproximadamente 70% das pacientes com doença avançada(4). O osso é o primeiro local de metástases em 26% a 50% e pode ocorrer em 30% a 85% das pacientes(5,6). O risco de uma paciente apresentar metástases ósseas está relacionado com o estágio da doença. Pacientes em estádios I e II têm 0% a 2,6% de risco, enquanto pacientes em estádios III e IV 16,8% a 40,5%(6-8). A investigação de metástases ósseas não é recomendada por



alguns como rotina em pacientes assintomáticas em estádios iniciais (T1-2 N0-1), mas pode ser realizada em pacientes em estágio II(9-12).

A literatura comumente indica a avaliação ou não do esqueleto em função do estadiamento, que é dado em função do tamanho do tumor, da presença de linfonodos axilares metastáticos e de metástases à distância(13).

A maioria dos estudos realizados para avaliação de metástases ósseas de câncer de mama utilizou como critério para estadiar as pacientes o tamanho do tumor e a presença de linfonodos comprometidos(7, 8, 10, 12, 14-16). Recentemente alguns autores têm estudado dados da patologia e da imunoistoquímica além do tamanho tumoral e da presença de linfonodos metastáticos para classificar as pacientes em grupos de maior ou menor probabilidade de apresentar metástases ósseas(7, 17). Um estudo evidenciou que a idade, o grau tumoral e receptores de progesterona positivos se correlacionam positivamente com metástases ósseas(17), porém neste a amostra foi de 126 pacientes, das quais apenas 11 apresentaram metástases. Koizumi (2001) encontrou correlação positiva entre metástases ósseas e tamanho tumoral, linfonodos axilares positivos e tipo histológico. Neste estudo os tumores foram analisados em relação ao tamanho e não apenas classificados em T1, T2, T3 ou T4, e os resultados mostraram discriminação estatisticamente significativa usando 30 mm como ponto de corte(7). A análise de outros fatores prognósticos menores tais como o ki 67 , p53 e o C-erb-B2 não foi realizada nesses estudos sendo muito controversa a determinação destes como marcadores no rastreo metastático bem como preditores de metástases ósseas.

Os fatores prognósticos estabelecidos, já citados previamente, são o tamanho tumoral e o comprometimento linfonodal, sendo este último o mais importante na

avaliação do risco de doença a distância. Observa-se, porém, que algumas mulheres acometidas pelo câncer da mama em estádios iniciais apresentam tumores mais agressivos com surgimento de metástases a distância sem a apresentação da doença previamente na axila. A análise desta situação particular demonstrou que a origem genética e o polimorfismo (microarrays) parece ser fundamental para se determinar qual a capacidade de invasão e disseminação do carcinoma mamário independente do seu estadiamento clínico. É possível ainda que possam ser identificados subgrupos de mulheres sem evidência de metástases linfonodais e com tumores pequenos que apresentem maior risco de metástases. Essas pacientes seriam identificadas através dos dados da patologia que refletem o comportamento do tumor tais como grau celular, presença de receptores de estrogênio e de progesterona e expressão dos marcadores prognósticos (p-53, ki-67 e cerb-B2).

O objetivo deste estudo é comparar os fatores prognósticos e preditivos Ki 67, p53, C-erb-B2, receptores de estrogênio e progesterona através de estudo imunoistoquímico em tumores de mama de pacientes com e sem metástases ósseas, bem como avaliar se estes, a idade, o grau tumoral, tamanho tumoral e comprometimento linfonodal são fatores de risco para doença óssea metastática.

## REVISÃO DA LITERATURA

### FISIOPATOLOGIA DAS METÁSTASES ÓSSEAS

Metástases ósseas ocorrem em 8% das pacientes com carcinoma de mama, e em aproximadamente 70% das pacientes com doença avançada(4).

Metástases ósseas no câncer de mama ocorrem por disseminação hematogênica de células tumorais. A predileção de células metastáticas para os ossos ocorre devido ao alto fluxo sanguíneo na medula óssea, onde também se encontram fatores de crescimento e de angiogênese. Além disso, as células tumorais produzem moléculas adesivas que ajudam na localização no osso(18).

A medula óssea vermelha está localizada predominantemente no esqueleto axial (vértebras, costelas, crânio e porção proximal de ossos longos), o que justifica a predileção das metástases para estes locais(6). Soma-se a isso a existência do plexo venoso de Batson, que é uma rede de veias paravertebrais sem válvulas que apresenta anastomoses com os sinusóides da medula óssea das vértebras e vasos epidurais. Este plexo provavelmente apresenta uma anastomose com os sistemas ázigos e hemi-ázigos e o sistema mamário interno das veias da parede torácica(6, 19, 20). Dessa forma, os locais mais freqüentes de metástases ósseas são a coluna torácica (53%), pelve (50%), coluna lombar (49%), costelas (39%), fêmures (31%), crânio (24%), coluna cervical (22%), úmeros (18%) e esterno (18%-34%)(5, 21). O esterno geralmente é sítio de metástases por comprometimento dos linfonodos mamários internos e invasão por contigüidade(22).

Em 75%-80% das vezes as metástases são osteolíticas. Há um espectro contínuo de lesões líticas e blásticas, com perda da regulação do processo de remodelação óssea. Ocorre um ciclo vicioso nas metástases ósseas do câncer de mama, em que as células metastáticas estimulam a formação de osteoclastos, que, por sua vez, reabsorvem o osso e liberam fatores de crescimento, estimulando as células tumorais. Isso leva a um aumento do número de células neoplásicas e da destruição óssea(18).

### **COMPLICAÇÕES DAS METÁSTASES ÓSSEAS**

Tanto as metástases osteoblásticas/escleróticas quanto as osteolíticas podem levar a complicações importantes. As metástases osteoblásticas costumam causar dor e fraturas patológicas, enquanto que as metástases osteolíticas causam dor, fraturas patológicas, hipercalcemia, mielossupressão, compressão de canal medular e lesão de raiz nervosa

A dor pode estar presente em 75%-80% das pacientes com metástases. Fraturas patológicas podem ocorrer entre 7% e 25%. Hipercalcemia, compressão do canal medular e mielopatia ocorrem em 9%, 8% e 7%, respectivamente(5, 23).

### **A IMPORTÂNCIA DAS METÁSTASES ÓSSEAS**

As metástases ósseas no câncer da mama não apresentam o mesmo significado patológico da maioria dos tumores malignos ou seja, não significam necessariamente um prognóstico ruim no curto prazo. O tempo médio de sobrevivência das pacientes com metástases ósseas isoladas sem comprometimento visceral é de 24 meses, sendo que aproximadamente 20% das pacientes estarão vivas 5 anos após o diagnóstico(24). No

momento do diagnóstico, até 5% das pacientes pode se apresentar em estágio IV. No entanto, foi identificado um grupo de pacientes com metástases exclusivamente ósseas que teve uma sobrevida de 33 meses em relação às pacientes que também tinham metástases viscerais, que tiveram sobrevida média de 9 meses. A presença de disseminação visceral do tumor, dessa forma, apresenta prognóstico bastante reservado com sobrevida de poucos meses(4).

### **DETECÇÃO DE METÁSTASES ÓSSEAS**

Os estudos de imagem são importantes no acompanhamento das pacientes com câncer de mama. As diferentes modalidades de imagem existentes se baseiam em princípios diferentes para a formação de imagem.

O raio-x e a tomografia computadorizada utilizam raios-x para avaliar as diferenças de densidade dos tecidos, formando uma imagem anatômica de alta resolução. Nos exames radiológicos as metástases podem ser osteolíticas, osteoblásticas ou mistas, sendo que no câncer de mama elas são mais frequentemente osteolíticas. Metástases vertebrais podem se manifestar como destruição pedicular, massa de tecidos moles e deformidades angulares e/ou irregulares das bordas. Os estudos radiológicos são pouco sensíveis na detecção de metástases. Como regra geral, apenas lesões com 1 a 2 cm ou mais são visíveis. Além disso, só são visíveis quando induzem uma perda de 50% ou ganho de 30% do conteúdo mineral do osso(25).

A tomografia computadorizada (TC) pode evidenciar lesões vistas na cintilografia que não são vistas em radiografias, sejam líticas, mistas ou escleróticas. No entanto, a TC

não tem boa sensibilidade na detecção de metástases medulares. Dessa forma, a TC é útil na avaliação de pacientes sintomáticos ou com alta suspeita clínica, cuja cintilografia é positiva mas as radiografias são negativas.

A ressonância magnética (RM) é um método sensível para a detecção de metástases ósseas e pode mostrar precocemente a disseminação hematogênica de tumores para a medula óssea. Devido ao custo, a RM não é utilizada rotineiramente no estadiamento ósseo de pacientes com câncer de mama(26).

A cintilografia óssea é mais sensível para a detecção precoce de doença metastática do que estudos radiológicos de rotina. Anormalidades na cintilografia podem preceder os achados radiológicos em 4 a 6 meses(20, 27). A sensibilidade da técnica se deve ao fato de que 5-15% de aumento na atividade óssea já possibilita a detecção de alterações na captação. Estudos animais, com inoculação de células tumorais na medula óssea mostraram que a cintilografia detecta a formação óssea reativa após 1 semana(28). Os traçadores ósseos utilizados na medicina nuclear são complexos de fosfatos ligados ao nuclídeo emissor de radiação gama, o  $^{99m}\text{Tc}$  (Tecnécio). Entre os mais comumente utilizados estão o MDP (metileno difosfonato) e o HDP/HMDP (hidroximetileno difosfonato). A captação ocorre no processo de formação óssea em metástases osteoblásticas ou secundariamente ao reparo em metástases osteolíticas(18).

A cintilografia óssea tem alta sensibilidade para a detecção de metástases ósseas, com valores até 98%. No entanto, sua especificidade é controversa, e geralmente é descrita como baixa. Este fato pode ser contornado através de exames bem feitos e de boa qualidade, elevando a especificidade a valores tão altos quanto 95%(29). Foram descritas variações dos valores de verdadeiros positivos entre 11,9% a 72,8%(29,30).

Quando comparada ao raio-x, a cintilografia detecta 28% mais lesões, enquanto que apenas 1,5% das anormalidades vistas no raio-x não são vistas na cintilografia(25).

A indicação da cintilografia óssea depende do estadiamento do tumor. O risco de metástases ósseas na avaliação cintilográfica é de 0 a 0,8% em estágio I, 2,6 a 3% em estágio II, 7% a 16,8% em estágio III e 40,5% a 47% em estágio IV (6, 8, 9, 19). Uma meta-análise do uso da cintilografia óssea em câncer de mama em 5407 pacientes mostrou presença de metástases em 0,5% em estágio I, 2,4% em estágio II e 8,3% em estágio III(12).

Recentemente a tomografia por emissão de pósitrons (PET) realizada com a glicose marcada com flúor radioativo (FDG-<sup>18</sup>F) tem sido cada vez mais utilizada no câncer de mama. Entre suas principais indicações estão o diagnóstico da doença, estadiamento, re-estadiamento, prognóstico e avaliação de terapia. A maioria das neoplasias da mama tem aumento no metabolismo da glicose e, conseqüentemente, captam FDG-<sup>18</sup>F. A sensibilidade e a especificidade do PET são, de maneira geral, similares às da cintilografia óssea (80,0% versus 78,2% e 88,2% versus 82,4%, respectivamente). No entanto, quando as lesões são separadas por tipo (osteoblástica, osteolítica ou mista), surgem discrepâncias. A detecção de lesões ósseas tem valores entre 94,7%-100% versus 55,6%-73,7% em lesões osteoblásticas, 70,0%-73% versus 92,3%-100,0% em lesões osteolíticas, e 84,2% versus 94,7% em lesões mistas, para a cintilografia óssea e para o PET, respectivamente(31, 32).

## **GUIDELINES NO RASTREIO DAS METÁSTASES ÓSSEAS**

Muitos estudos foram realizados no intuito de determinar qual a indicação de rastrear a doença óssea metastática em mulheres assintomáticas de acordo com o estadiamento da doença. A Sociedade Americana de Oncologia Clínica não recomenda o rastreamento ósseo de rotina no seguimento das pacientes com câncer de mama por não haver evidência de ganho de sobrevida em pacientes com investigação intensa(11, 33, 34). O início adequado para o rastreamento e a frequência com que deve ser feito não estão definidos na literatura(6) .

A Associação Médica Canadense sugere que a realização de cintilografia óssea está indicada para todas as pacientes nos estádios II e III no momento do diagnóstico e tratamento e em todas as pacientes, independente do seu estágio inicial, que em seguimento pós-tratamento apresentarem dor óssea em repouso sem alívio com medicamentos(12). Pacientes em estágios iniciais da doença têm uma frequência muito baixa de metástases, não justificando a investigação(7, 8, 10, 35).



## FATORES PROGNÓSTICOS E PREDITIVOS

Os fatores prognósticos estão associados ao tempo livre de doença ou de sobrevida global na ausência de terapia sistêmica adjuvante, de forma que refletem a história natural da doença. Os principais fatores prognósticos são o tamanho do tumor, a presença e o número de linfonodos metastáticos, o tipo histológico, o grau tumoral, a presença de invasão linfovascular, o estado dos receptores hormonais e medida de proliferação(36, 37).

A presença de metástases em linfonodos é o mais importante fator prognóstico para carcinoma invasivo na ausência de metástases à distância. O tamanho do tumor é um importante fator prognóstico, principalmente quando os linfonodos são negativos. A recorrência aumenta quanto maior o tumor primário. Tumores pequenos têm uma baixa frequência de linfonodos positivos. Os tumores com tipos histológicos invasivos/infiltrativos têm mais frequentemente metástases axilares e pior prognóstico do que os tumores *in situ*. O grau tumoral reflete o grau de diferenciação, o pleomorfismo e o índice mitótico, através de um sistema de escore que leva ao enquadramento em uma das seguintes categorias: I: bem diferenciado; II: moderadamente diferenciado; III: pouco diferenciado(36, 38, 39). A presença de invasão linfovascular está associada a um maior risco de recorrência local e à distância(37). O ki-67 é um anti-corpo contra antígenos da proliferação celular, que pode ser usado junto com outros fatores prognósticos para identificar um grupo de pacientes com linfonodos negativos com baixo risco, de forma que não necessitem tratamento(37).

Os fatores preditivos são medidas que estão associados a resposta ou não a uma terapia específica, como quimio ou hormonioterapia. Os receptores hormonais, quando positivos, permitem que as pacientes sejam tratadas com hormonioterapia. O uso de tamoxifen em pacientes com tumores com receptores hormonais positivos mostrou redução nos riscos de recorrência e mortalidade em 5 anos na ordem de 47% e 26%, respectivamente. Não houve benefício no tratamento das pacientes com receptores hormonais negativos(40). O HER2/neu (ou c-Erb-b2) é um proto-oncogene cuja expressão está aumentada em 30% tumores de mama, de forma que eles são mais agressivos, têm maiores taxas de recorrência e maior mortalidade em pacientes com linfonodos positivos, enquanto que sua influência é mais variável em pacientes com linfonodos negativos. Suspeita-se que o HER2 também pode predizer a resposta à quimio e hormonioterapia(37).

## **PROGNÓSTICO E RECORRÊNCIA**

A detecção precoce da recorrência do câncer de mama é debatida na literatura. Isso se deve ao fato de que o aumento da sobrevida após a detecção de metástases é modesto com os tratamentos e com as evidências disponíveis(41).

Entre os fatores prognósticos avaliáveis pela patologia e que estão associados a uma menor sobrevida livre de doença estão a presença e o número de linfonodos axilares metastáticos e o tamanho do tumor. Quanto maior o número de linfonodos axilares positivos, menor é a sobrevida livre de doença. Por outro lado, quanto maior tamanho do tumor primário, menor é a sobrevida livre de doença. No entanto, o risco de recorrência

aumenta até um tamanho de 3 a 6 cm de diâmetro, possivelmente porque tumores que tenham chegado a tamanhos maiores tenham menor agressividade por menor potencial metastático(41). Tumores pequenos, com menos de 1 cm de diâmetro, têm uma taxa de recorrência local de 2,8% e de 6,5% em 20 em pacientes com linfonodos axilares negativos e positivos, respectivamente(42-44).

A presença de receptores hormonais positivos influencia tanto a conduta terapêutica quanto o prognóstico das pacientes com câncer de mama. Pacientes com receptores positivos têm intervalo livre de doença maior. O receptor de estrogênio é um preditor da sobrevida livre de doença, enquanto o receptor de progesterona permite avaliar a sobrevida global(41). A presença de receptores hormonais está altamente correlacionada com os resultados do tratamento endócrino com tamoxifeno.

Os fatores prognósticos associados a uma menor sobrevida livre de doença são linfonodos axilares positivos, tamanho do tumor, receptores hormonais negativos, c-erb-B2 positivo(45-48).

## **OBJETIVOS**

### Geral

Determinar se os indicadores prognósticos e preditivos estão associados a um risco maior de metástases ósseas em um grupo de mulheres portadoras de câncer de mama invasor.

### Específicos

Correlacionar a associação de metástases ósseas com:

- Idade das pacientes
- Tamanho do tumor
- Presença de linfonodos axilares comprometidos
- Estádio clínico
- Histologia tumoral
- Grau histológico
- Expressão do ki-67
- Expressão do p53
- Expressão do cerb-B2
- Presença de invasão linfovascular
- Expressão de receptores tumorais (estrogênio e progesterona)

## BIBLIOGRAFIA

1. INCA. Estimativa 2006: Incidência de câncer Brasil. 2006 [cited 20/12/2006]; Available from: <http://www.inca.gov.br>
2. Society AC. Estimated new cancer cases and deaths by sex for all sites, 2006. 2006 [cited 20/12/2006]; Available from: <http://www.cancer.org/downloads/stt/CAFF06EsCsMc.pdf>
3. Barros A, Barbosa E, Gebrim L. Projeto Diretrizes: Diagnóstico e Tratamento do Câncer de Mama. 2001 [cited 30/04/2006]; Available from: [http://www.sbmastologia.com.br/upload/sbm/conheca/projeto\\_diretrizes1.pdf](http://www.sbmastologia.com.br/upload/sbm/conheca/projeto_diretrizes1.pdf)
4. Coleman RE, Rubens RD. The clinical course of bone metastases from breast cancer. Br J Cancer. 1987 Jan;55(1):61-6.
5. Solomayer EF, Diel IJ, Meyberg GC, Gollan C, Bastert G. Metastatic breast cancer: clinical course, prognosis and therapy related to the first site of metastasis. Breast Cancer Res Treat. 2000 Feb;59(3):271-8.
6. Hamaoka T, Madewell JE, Podoloff DA, Hortobagyi GN, Ueno NT. Bone imaging in metastatic breast cancer. J Clin Oncol. 2004 Jul 15;22(14):2942-53.
7. Koizumi M, Yoshimoto M, Kasumi F, Ogata E. What do breast cancer patients benefit from staging bone scintigraphy? Jpn J Clin Oncol. 2001 Jun;31(6):263-9.
8. Coleman RE, Rubens RD, Fogelman I. Reappraisal of the baseline bone scan in breast cancer. J Nucl Med. 1988 Jun;29(6):1045-9.

9. Yeh KA, Fortunato L, Ridge JA, Hoffman JP, Eisenberg BL, Sigurdson ER. Routine bone scanning in patients with T1 and T2 breast cancer: a waste of money. *Ann Surg Oncol*. 1995 Jul;2(4):319-24.
10. Samant R, Ganguly P. Staging investigations in patients with breast cancer: the role of bone scans and liver imaging. *Arch Surg*. 1999 May;134(5):551-3; discussion 4.
11. Khatcheressian JL, Wolff AC, Smith TJ, Grunfeld E, Muss HB, Vogel VG, et al. American Society of Clinical Oncology 2006 update of the breast cancer follow-up and management guidelines in the adjuvant setting. *J Clin Oncol*. 2006 Nov 1;24(31):5091-7.
12. Myers RE, Johnston M, Pritchard K, Levine M, Oliver T. Baseline staging tests in primary breast cancer: a practice guideline. *Cmaj*. 2001 May 15;164(10):1439-44.
13. Singletary SE, Greene FL. Revision of breast cancer staging: the 6th edition of the TNM Classification. *Semin Surg Oncol*. 2003;21(1):53-9.
14. Ravaioli A, Tassinari D, Pasini G, Polselli A, Papi M, Fattori PP, et al. Staging of breast cancer: what standards should be used in research and clinical practice? *Ann Oncol*. 1998 Nov;9(11):1173-7.
15. Curigliano G, Ferretti G, Colleoni M, Marrocco E, Peruzzotti G, De Cicco C, et al. Bone scan had no role in the staging of 765 consecutive operable T(1-2)N(0-1) breast cancer patients without skeletal symptoms. *Ann Oncol*. 2001 May;12(5):724-5.
16. Yip CH, Paramsothy M. Value of routine <sup>99m</sup>Tc-MDP bone scintigraphy in the detection of occult skeletal metastases in women with primary breast cancer. *Breast*. 1999 Oct;8(5):267-9.
17. Ho YY, Chan YH. Predictors of a positive baseline bone scan in breast cancer. *Australas Radiol*. 2005 Feb;49(1):21-6.

18. Roodman GD. Mechanisms of bone metastasis. *N Engl J Med*. 2004 Apr 15;350(16):1655-64.
19. Maffioli L, Florimonte L, Pagani L, Butti I, Roca I. Current role of bone scan with phosphonates in the follow-up of breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2004 Jun;31 Suppl 1:S143-8.
20. Rybak LD, Rosenthal DI. Radiological imaging for the diagnosis of bone metastases. *Q J Nucl Med*. 2001 Mar;45(1):53-64.
21. Koizumi M, Yoshimoto M, Kasumi F, Ogata E. Comparison between solitary and multiple skeletal metastatic lesions of breast cancer patients. *Ann Oncol*. 2003 Aug;14(8):1234-40.
22. O'Sullivan JM, Cook GJ. A review of the efficacy of bone scanning in prostate and breast cancer. *Q J Nucl Med*. 2002 Jun;46(2):152-9.
23. Ripamonti C, Fulfaro F. Pathogenesis and pharmacological treatment of bone pain in skeletal metastases. *Q J Nucl Med*. 2001 Mar;45(1):65-77.
24. Boxer DI, Todd CE, Coleman R, Fogelman I. Bone secondaries in breast cancer: the solitary metastasis. *J Nucl Med*. 1989 Aug;30(8):1318-20.
25. Van der Wall H, Clarke S. The evaluation of malignancy: metastatic bone disease. In: Ell PJ, Gambhir SS, editors. *Nuclear Medicine in Clinical Diagnosis and Treatment*. 3 ed: Churchill Livingstone; 2004. p. 641-55.
26. Peh WCG MM. Bone metastases. 2005 [cited 07/may/2006]; Available from: <http://www.emedicine.com/RADIO/topic88.htm>
27. Even-Sapir E. Imaging of malignant bone involvement by morphologic, scintigraphic, and hybrid modalities. *J Nucl Med*. 2005 Aug;46(8):1356-67.

28. Galasko CS. The pathological basis for skeletal scintigraphy. *J Bone Joint Surg Br.* 1975 Aug;57(3):353-9.
29. Crippa F, Seregini E, Agresti R, Bombardieri E, Buraggi GL. Bone scintigraphy in breast cancer: a ten-year follow-up study. *J Nucl Biol Med.* 1993 Jun;37(2):57-61.
30. Wikenheiser KA, Silberstein EB. Bone scintigraphy screening in stage I-II breast cancer: is it cost-effective? *Cleve Clin J Med.* 1996 Jan-Feb;63(1):43-7.
31. Nakai T, Okuyama C, Kubota T, Yamada K, Ushijima Y, Taniike K, et al. Pitfalls of FDG-PET for the diagnosis of osteoblastic bone metastases in patients with breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2005 Nov;32(11):1253-8.
32. Abe K, Sasaki M, Kuwabara Y, Koga H, Baba S, Hayashi K, et al. Comparison of 18FDG-PET with 99mTc-HMDP scintigraphy for the detection of bone metastases in patients with breast cancer. *Ann Nucl Med.* 2005 Oct;19(7):573-9.
33. Impact of follow-up testing on survival and health-related quality of life in breast cancer patients. A multicenter randomized controlled trial. The GIVIO Investigators. *Jama.* 1994 May 25;271(20):1587-92.
34. Rosselli Del Turco M, Palli D, Cariddi A, Ciatto S, Pacini P, Distante V. Intensive diagnostic follow-up after treatment of primary breast cancer. A randomized trial. National Research Council Project on Breast Cancer follow-up. *Jama.* 1994 May 25;271(20):1593-7.
35. Oka H, Kondoh T, Seichi A, Hozumi T, Nakamura K. Incidence and prognostic factors of Japanese breast cancer patients with bone metastasis. *J Orthop Sci.* 2006 Jan;11(1):13-9.



36. Clark GM. Fatores prognósticos e preditivos. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, editors. Doenças da Mama 2a ed: MEDSI Editora Medica e Cientifica; 2002.
37. Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *Oncologist*. 2004;9(6):606-16.
38. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*. 2000 Jul;124(7):966-78.
39. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991 Nov;19(5):403-10.
40. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lancet*. 1998 May 16;351(9114):1451-67.
41. Hayes DF. Avaliação após Terapia Primária. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, editors. Doenças da Mama 2a ed: MEDSI Editora Medica e Cientifica; 2002. p. 849-74.
42. Rosen PP, Groshen S, Saigo PE, Kinne DW, Hellman S. Pathological prognostic factors in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma: a study of 644 patients with median follow-up of 18 years. *J Clin Oncol*. 1989 Sep;7(9):1239-51.
43. Rosen PR, Groshen S, Saigo PE, Kinne DW, Hellman S. A long-term follow-up study of survival in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma. *J Clin Oncol*. 1989 Mar;7(3):355-66.

44. Fisher B, Redmond C, Wickerham DL, Wolmark N, Bowman D, Couture J, et al. Systemic therapy in patients with node-negative breast cancer. A commentary based on two National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) clinical trials. *Ann Intern Med.* 1989 Nov 1;111(9):703-12.
45. Gusterson BA, Gelber RD, Goldhirsch A, Price KN, Save-Soderborgh J, Anbazhagan R, et al. Prognostic importance of c-erbB-2 expression in breast cancer. International (Ludwig) Breast Cancer Study Group. *J Clin Oncol.* 1992 Jul;10(7):1049-56.
46. Horita K, Yamaguchi A, Hirose K, Ishida M, Noriki S, Imamura Y, et al. Prognostic factors affecting disease-free survival rate following surgical resection of primary breast cancer. *Eur J Histochem.* 2001;45(1):73-84.
47. Eissa S, Khalifa A, el-Gharib A, Salah N, Mohamed MK. Multivariate analysis of DNA ploidy, p53, c-erbB-2 proteins, EGFR, and steroid hormone receptors for short-term prognosis in breast cancer. *Anticancer Res.* 1997 Jul-Aug;17(4B):3091-7.
48. Kim KJ, Huh SJ, Yang JH, Park W, Nam SJ, Kim JH, et al. 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.

**ASSOCIAÇÃO ENTRE METÁSTASES ÓSSEAS E FATORES PROGNÓSTICOS  
NO CÂNCER DE MAMA INVASIVO**

Anselmi, CE; Graudenz, MS; Caleffi, M, Barcellos, MC; Silveira, GPG

**Palavras-chave:** receptores hormonais, receptores de estrogênio, receptores de progesterona, imunoistoquímica

**Sinopse:** a utilização dos resultados da imunoistoquímica, em particular os receptores hormonais, pode auxiliar a indicação da pesquisa de metástases ósseas além dos parâmetros clássicos (tamanho do tumor e presença de linfonodos axilares metastáticos).

## Resumo

**Objetivo:** o osso é local freqüente de metástases em pacientes com câncer de mama. Na indicação do rastreamento ósseo são levados em consideração o tamanho tumoral e o *status* axilar, mas não a imunohistoquímica dos tumores. O objetivo deste trabalho é avaliar os fatores prognósticos clássicos e aqueles identificados pela imunohistoquímica em tumores de mama de pacientes com e sem metástases ósseas.

**Materiais e métodos:** após cálculo amostral, 40 pacientes com e 47 sem metástases ósseas foram selecionadas a partir dos laudos de cintilografias ósseas no período 2000 a 2005. Foram comparados, através de análise uni e multivariada, o tamanho dos tumores, o número de linfonodos axilares metastáticos, o tipo histológico, o grau tumoral, a expressão de receptores de estrogênio e de progesterona, do p53, do ki-67 e do c-erb-b2 e a presença de invasão linfovascular.

**Resultados:** as análises uni e multivariada mostraram correlação significativa entre o tamanho do tumor ( $p=0,031$ ), a presença de receptores de estrogênio ( $p=0,034$ ) e a ausência de receptores de progesterona ( $p=0,032$ ) com um maior risco de metástases ósseas. A presença de linfonodos axilares metastáticos mostrou uma tendência, mas não foi estatisticamente significativa ( $p=0,058$ ). Idade, tipo histológico, grau tumoral, expressão de ki-67, p53, c-erb-b2 ou invasão linfovascular não foram preditores de metástases ósseas.

**Conclusão:** é possível que pacientes com receptores de estrogênio positivos e/ou com receptores de progesterona negativo configurem um grupo com maior risco para metástases ósseas, independente do estágio clínico (tamanho do tumor e status axilar).

## INTRODUÇÃO

Metástases ósseas ocorrem em 8% das pacientes com carcinoma de mama, e em aproximadamente 70% das pacientes com doença avançada(1). O osso é o primeiro local de metástases em 26% a 50% dos casos e metástases podem ocorrer em 30% a 85% das pacientes(2, 3).

O risco de metástases ósseas na avaliação cintilográfica é de 0 a 0,8% em estágio I, 2,6 a 3% em estágio II, 7% a 16,8% em estágio III e 40,5% a 47% em estágio IV (3-6). Uma meta-análise do uso da cintilografia óssea em câncer de mama em 5407 pacientes mostrou presença de metástases em 0,5% em estágio I, 2,4% em estágio II e 8,3% em estágio III(7). Classicamente são utilizados como critério para indicar o rastreamento ósseo o tamanho do tumor primário e a presença de linfonodos axilares metastáticos(7). Atualmente o estudo anatomopatológico do câncer de mama não se resume ao tamanho ou à presença de linfonodos axilares metastáticos. Também é avaliada a presença de receptores hormonais (estrogênio e progesterona), a expressão de antígenos de proliferação celular (ki-67), a presença do p53 e de Her-2 (c-erb-b2). O prognóstico e a sobrevida livre de doença das pacientes com câncer de mama dependem principalmente do status axilar, seguido do tamanho do tumor, e de outros fatores, como o estado dos receptores de estrogênio e de progesterona e o Her-2, mas esses fatores não são considerados na indicação de rastreamento ósseo(8, 9).

O objetivo deste trabalho é avaliar se o resultado da análise imunoistoquímica dos receptores de estrogênio e de progesterona, do ki-67, do p53 e do Her-2 acrescenta valor prognóstico aos dados clássicos de tamanho e presença de linfonodos metastáticos para o

risco de desenvolvimento de metástases ósseas em pacientes com câncer de mama invasor.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este é um estudo transversal, retrospectivo, realizado em um único centro.

### **Pacientes**

Entre 2000 e 2005, 2702 pacientes do sexo feminino com câncer de mama provenientes do Sistema Único de Saúde (SUS) foram submetidas a cintilografia óssea para rastreamento de metástases. Todos os laudos foram revisados e os resultados anatomopatológicos e de imunohistoquímica do registro hospitalar foram anexados através de um banco de dados (Microsoft Access, Redmond-Washington). O tamanho da amostra foi calculado através da amostra dos receptores de progesterona de 292 pacientes, considerando  $p=0,05$  e uma diferença mínima de 15% para discriminar entre pacientes com e sem metástases ósseas. O tamanho encontrado para cada grupo foi de 40 pacientes.

Em ordem alfabética, 40 pacientes com metástases ósseas na cintilografia óssea foram selecionadas e seus prontuários revisados. Após, em ordem alfabética, os prontuários de 47 pacientes com cintilografia normal ou com resultado equívoco foram revisados, para excluir metástases ósseas. Foram incluídas no estudo: 1)pacientes com câncer de mama invasor; 2)follow-up mínimo de 1 ano; 3)estudo radiológico confirmando ou excluindo os achados cintilográficos equívocos. Foram excluídas as pacientes com história de outro câncer tratado previamente, com câncer de mama bilateral ou com carcinoma *in situ*.

### **Cintilografia óssea e raio-x**

As cintilografias ósseas foram realizadas 3 horas após a administração venosa de  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP (metileno difosfonado), com colimador de alta resolução e gama-câmera Siemens Ecam. Foram obtidas imagens do rastreamento do corpo inteiro nas projeções anterior e posterior e imagens estáticas focadas de regiões de interesse de acordo com eventuais necessidades.

O padrão de múltiplas áreas focais de hipercaptação com distribuição aleatória, predominante no esqueleto axial, foi considerado positivo para metástases ósseas. Quando a cintilografia mostrou áreas equívocas, lesões solitárias ou quando sugeriu investigação radiológica, na maioria dos casos foi realizado raio-x para elucidação. Poucos casos realizaram tomografia computadorizada. Áreas líticas ou blásticas anormais no raio-x focado foram consideradas positivas para metástases. Quando o raio-x não evidenciou lesão correspondente à alteração vista na cintilografia, um follow-up mínimo de 1 ano sem sintomas de progressão de doença foi utilizado para julgar o resultado da cintilografia como falso-positivo.

### **Patologia e imunoistoquímica**

As informações buscadas nos laudos do Laboratório de Patologia foram o tamanho tumoral, tipo histológico, grau nuclear e invasão de estruturas (vasos sangüíneos, vasos linfáticos, pele, mamilo).

Frações representativas do tumor foram coradas com hematoxilina-eosina. A graduação nuclear tumoral foi feita com base no sistema de Bloom e Richardson modificada por Elston, que leva em consideração a percentagem de formação de túbulos, o pleomorfismo nuclear e a contagem de mitoses por campo de grande aumento(10).

Os linfonodos axilares foram isolados e analisados através de uma secção histológica e corados por hematoxilina-eosina. Linfonodos-sentinela, quando a técnica foi realizada, foram totalmente incluídos e examinados com cortes de 5 micras.



Para a análise imunohistoquímica dos fatores prognósticos os blocos mais representativos foram selecionados. Os blocos de parafina foram cortados com espessura de 5 micrômetros e as lâminas desparafinadas em estufa a 60° C por 30 minutos. Após, foram submersas em xilol em duas etapas de cinco minutos, submetidas a concentrações de álcool absoluto 90%, 70% e 50% e lavadas em água destilada. A recuperação antigênica foi feita através de uma solução de citrato de sódio (pH 6,0) em banho Maria a 92° C durante 40 minutos. O bloqueio da peroxidase endógena foi realizado através de duas submersões com 10 minutos cada em solução de metanol mais água oxigenada com proteção da luz. Ligações inespecíficas foram bloqueadas com solução de proteína inócua à amostra (Dako – Protein Block Serum-free). Após, as lâminas foram incubadas com os anticorpos primários (tabela) a 4° C.

Tabela 1: anticorpos primários usados na imunoistoquímica

<i>Anticorpo</i>	<i>Clone</i>	<i>Fornecedor</i>	<i>Diluição</i>
RE	Monoclonal - 1D5	Dako	1:100
RP	Monoclonal - 1A6	Dako	1:100
Ki67	Monoclonal - Mib-1	Dako	1:100
p53	Monoclonal - DO7	Dako	1:100
Her-2	Policlonal	Dako	1:100

As lâminas foram incubadas com anticorpo secundário biotilado por 40 minutos (Superkit ABC – Easy Path, diluição 5:1000), lavadas em solução de tampão fosfato (PBS), incubadas em complexo biotina–peroxidase e novamente lavadas com PBS, para então ser reveladas com substrato cromógeno - diaminobenzidina (DAB). A contracoloração foi realizada com hematoxilina e imediatamente após submetidas a solução de amônio por 30 segundos. Após desidratação, as lamínas foram montadas com Entellan®.

### **Análise Estatística**

A análise estatística foi realizada com o software SPSS (Versão 13, SPSS, Chicago, IL, EUA). Foi considerado significativo  $p < 0,05$ . Foi realizada a análise univariada através de regressão logística da idade, tamanho do tumor, número de linfonodos positivos, receptores de estrogênio, receptores de progesterona, expressão do ki-67, expressão de p53, expressão de c-erb-b2, invasão linfovascular, grau tumoral. A partir das variáveis estatisticamente significativas ou com forte tendência, foi realizada uma análise multivariada por regressão logística.

## RESULTADOS

Foram incluídas no estudo 40 pacientes com e 47 sem metástases ósseas. A tabela 1 mostra as características das pacientes do estudo.

### **Análise univariada**

A análise univariada (tabela 2) mostrou que pacientes com tumores maiores têm uma maior probabilidade de desenvolver metástases ósseas. Também foi encontrado um maior risco de metástases ósseas em pacientes com receptores de estrogênio positivos e em pacientes com receptores de progesterona negativos. O aumento do número de linfonodos axilares metastáticos mostrou uma tendência a maior risco de metástases, porém o p não foi estatisticamente significativo (0,053).

Não foi encontrada associação estatística entre a idade, a histologia dos tumores, o grau tumoral, a expressão de ki-67, de p53, ou do c-erb-b2, a presença de invasão linfovascular ou quimioterapia neoadjuvante.

Tabela 2: Características das pacientes

	Metástases	Sem metástases
Número de pacientes	40	47
Idade	Média: 56,8 (23-88) Mediana: 54,5	Média: 56,2 (29-85) Mediana: 55
Tumor		
• Tamanho	Média: 4,64 cm (1,0-16) Mediana: 3,5 cm	Média: 2,98 cm (1,0 – 10,0) Mediana: 2,5 cm
• T1	5 (13,5%)	9 (23,0%)
• T2	14 (37,8%)	21 (53,8%)
• T3	6 (16,2%)	3 (7,6%)
• T4	12 (32,4%)	6 (15,3%)
Linfonodos Positivos	Média: 8,67 (0-29) Mediana: 8	Média: 3,0 (0-19) Mediana: 1,5
• N0	4 (11,4%)	15 (36,6%)
• N1	10 (28,5%)	14 (34,1%)
• N2	13 (37,1%)	9 (22,0%)
• N3	8 (22,8%)	3 (7,3%)
Estádio clínico		
• I	2,78%	15,38%
• II	27,78%	41,03%
• III	69,44%	43,59%
Histologia		
• Carcinoma ductal infiltrante	35 (87,5%)	39 (83%)
• Carcinoma lobular infiltrante	5 (12,5%)	8 (17%)
Grau nuclear		
• I	4 (16,0%)	3 (8,3%)
• II	11 (44,0%)	15 (41,7%)
• III	10 (40,0%)	18 (50,0%)
Receptores de estrogênio		
• % de pacientes com expressão (critério = 10%)	75%	59,6%
Receptores de progesterona		
• % de pacientes com expressão (critério = 10%)	45,0%	69,6%
Expressão de ki-67		
• % de pacientes com expressão (critério = 20%)	64,1%	48,9%
Expressão de p53		
• % de pacientes com expressão (critério = 10%)	28,2%	23,4%
Expressão de c-erb-b2		
• % de pacientes com expressão (critério = 10%)	31,4%	37,0%
Invasão linfovascular	67,5%	55,3%
Químio neoadjuvante	7 (17,5%)	8 (17,0%)

### **Análise multivariada**

A análise multivariada (tabela 2) foi realizada com os fatores preditivos que foram estatisticamente significativos na análise univariada. Permaneceram como preditores de metástases o aumento no tamanho do tumor, a expressão de receptores de estrogênio e a ausência de receptores de progesterona. Cada centímetro de aumento no tamanho do tumor aumenta em 30% a probabilidade de metástases ósseas. O aumento do número de linfonodos axilares metastáticos mostrou uma tendência a ter associação com metástases ( $p=0,058$ ). A ausência de receptores de progesterona aumenta em 4,9 vezes a probabilidade de metástases.

Tabela 3: Fatores preditivos de metástases óssea

Fatores Preditivos	Análise Univariada		Análise Multivariada	
	<i>Odds Ratio</i> (IC 95%) <sup>†</sup>	<i>p</i>	<i>Odds Ratio</i> (IC 95%) <sup>‡</sup>	<i>p</i>
Idade	1,002 (0,974;1,032)	0,873	-	-
Histologia	0,696 (0,208;2,328)	0,557	-	-
Tamanho do tumor	1,317 (1,055;1,644)	0,015	1,322	0,031
Nº de linfonodos Positivos	1,194 (1,079;1,322)	0,053	1,116	0,058
Estádio clínico	3,750 (0,391;35,923)	0,252		
	8,824 (0,973;80,019)	0,053		
Receptores de estrogênio	2,036 (0,809;5,123)	0,131	5,523	0,034
Receptores de Progesterona	0,358 (0,148;0,867)	0,023	0,203	0,032
KI67	2,007 (0,831;4,843)	0,121	-	-
P53	1,333 (0,504;3,529)	0,562	-	-
Invasão linfovascular	1,678 (0,698;4,031)	0,247	-	-
Quimio neo	1,034 (0,339;3,154)	0,953	-	-
c-erb-b2	0,782 (0,308;1,985)	0,605	-	-
Grau tumoral	0,550 (0,102;2,972)	0,487	-	-
	0,417 (0,077;2,246)	0,308	-	-

† *Odds Ratio Não Ajustado*. ‡ *Odds Ratio Ajustado*

## DISCUSSÃO

O local mais comum de metástases de câncer de mama é o osso. A eficácia da cintilografia óssea para a identificação de metástases já foi muito estudada, e foi demonstrado que o rastreamento de rotina não é vantajoso na relação custo-benefício, pois apenas 0,6% das pacientes assintomáticas terão um exame positivo. Além disso, não existe benefício na sobrevida em 5 anos para as pacientes que são submetidas a cintilografia de rotina. Entretanto, a pesquisa de metástases ósseas está indicada em pacientes sintomáticas ou que apresentem alto risco de doença metastática. A identificação de outros fatores de risco, independentes do estadiamento, pode estabelecer a indicação da realização do rastreio metastático ósseo, inclusive em mulheres em estágio I assintomáticas.

A presença de receptores de estrogênio positivos neste estudo mostrou uma associação estatisticamente significativa com a presença de metástases ósseas ( $p=0,034$ ), elevando o risco em 5 vezes (intervalo de confiança: 1,324 a 24,262). Esse achado contrasta com o que é descrito em estudos que avaliaram tratamentos hormonais ou quimioterápicos, em que são descritos o intervalo livre de doença e a sobrevida global. Esses trabalhos não tiveram como objetivo primário discriminar pacientes com maior ou menor risco de metástases ósseas. Por outro lado, há autores que sugerem que tumores com receptores de estrogênio positivos têm uma maior probabilidade de se apresentarem inicialmente com metástases ósseas e em tecidos moles, enquanto pacientes com receptores negativos mais comumente metastatizam para cérebro e fígado(11). Quasi et al, 1984, observou alta frequência de metástases ósseas em pacientes com receptores de

estrogênio positivo (60,4%) em relação às pacientes com receptores de estrogênio negativo (13,4%)(12).

A ausência de receptores de progesterona mostrou uma associação com a presença de metástases ( $p=0,032$ ), com um risco aumentado em 4,9 vezes (intervalo de confiança: 0,04 a 0,674). Este achado contrasta com o descrito por Ho e Chan, 2005, em que foi encontrada uma associação entre a presença de receptores de progesterona e maior risco de metástases. No entanto, esse achado não foi evidente nas análises uni ou multivariada, se tornando evidente na regressão logística forward-stepwise (13). Outro estudo mostrou um pior prognóstico e um risco 3 vezes maior para metástases em pacientes com receptores de progesterona negativos(14). O receptor de progesterona está associado ao tempo de sobrevida global, possivelmente por ser melhor indicador de resposta à hormonioterapia(15, 16). Pacientes com receptores positivos nas metástases ósseas têm uma tendência a ter uma maior sobrevida do que pacientes com receptores de progesterona negativos nas metástases(17).

Este estudo está de acordo com a literatura, que mostra que o aumento no tamanho do tumor e o aumento do número de linfonodos metastáticos se correlacionam positivamente com o maior risco de metástases ósseas.

O c-erb-b2 está associado a uma pior sobrevida livre de doença e sobrevida global em pacientes com axila comprometida, mas seu valor prognóstico não é tão importante em pacientes com axila negativa. O p53 apresenta um pior prognóstico quanto à sobrevida livre de doença e global. O papel do ki-67 ainda é discutido na literatura quanto ao seu papel prognóstico devido à heterogeneidade dos estudos(18). Este estudo não encontrou associação entre a expressão de p53, ki-67, e c-erb-b2 com metástases ósseas.



O presente estudo apresenta algumas limitações: 1) não foram considerados os tratamentos adjuvantes (químico ou hormonioterapia) aos quais as pacientes foram submetidas; 2) algumas pacientes receberam mais de um tratamento adjuvante, geralmente por progressão da doença; 3) o período menstrual das pacientes não foi avaliado; 4) os exames com metástases ósseas foram selecionados a partir dos laudos cintilográficos com características típicas de metástases ósseas e não foram realizadas biópsias de todas as lesões ósseas para confirmação histológica.

A partir dos resultados deste estudo é possível que a indicação da pesquisa de metástases seja determinada não apenas pelo estadiamento tradicional, mas também por dados da imunohistoquímica dos tumores, principalmente dos receptores de estrogênio e de progesterona. Dessa forma, pacientes em estádios iniciais, com tumores pequenos e linfonodos negativos poderiam ter um risco aumentado de metástases ósseas se apresentarem receptores de estrogênio positivos e de progesterona negativos, justificando uma investigação.

## CONCLUSÃO

A análise desta amostra permitiu levantar como hipótese para risco metastático ósseo as pacientes que apresentarem receptores de estrogênio positivos e receptores de progesterona negativos, além de confirmar como fatores de risco o tamanho tumoral e o *status* axilar. São necessários estudos com amostra maior, de preferência prospectivos e com grupos pareados por estágio, de forma a determinar se os receptores hormonais estão realmente associados à presença de metástases ósseas ou se esse achado ocorreu por um viés de seleção desta amostra.

## BIBLIOGRAFIA

1. Coleman RE, Rubens RD. The clinical course of bone metastases from breast cancer. *Br J Cancer*. 1987 Jan;55(1):61-6.
2. Solomayer EF, Diel IJ, Meyberg GC, Gollan C, Bastert G. Metastatic breast cancer: clinical course, prognosis and therapy related to the first site of metastasis. *Breast Cancer Res Treat*. 2000 Feb;59(3):271-8.
3. Hamaoka T, Madewell JE, Podoloff DA, Hortobagyi GN, Ueno NT. Bone imaging in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2004 Jul 15;22(14):2942-53.
4. Coleman RE, Rubens RD, Fogelman I. Reappraisal of the baseline bone scan in breast cancer. *J Nucl Med*. 1988 Jun;29(6):1045-9.
5. Yeh KA, Fortunato L, Ridge JA, Hoffman JP, Eisenberg BL, Sigurdson ER. Routine bone scanning in patients with T1 and T2 breast cancer: a waste of money. *Ann Surg Oncol*. 1995 Jul;2(4):319-24.
6. Maffioli L, Florimonte L, Pagani L, Butti I, Roca I. Current role of bone scan with phosphonates in the follow-up of breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2004 Jun;31 Suppl 1:S143-8.
7. Myers RE, Johnston M, Pritchard K, Levine M, Oliver T. Baseline staging tests in primary breast cancer: a practice guideline. *Cmaj*. 2001 May 15;164(10):1439-44.
8. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lancet*. 1998 May 16;351(9114):1451-67.
9. Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *Oncologist*. 2004;9(6):606-16.

10. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991 Nov;19(5):403-10.
11. Elledge RM, Fuqua SAW. Receptores de Estrogênio e Progesterona. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, editors. *Doenças da Mama* 2a ed: MEDSI Editora Medica e Cientifica; 2002. p. 565-86.
12. Qazi R, Chuang JL, Drobyski W. Estrogen receptors and the pattern of relapse in breast cancer. *Arch Intern Med*. 1984 Dec;144(12):2365-7.
13. Ho YY, Chan YH. Predictors of a positive baseline bone scan in breast cancer. *Australas Radiol*. 2005 Feb;49(1):21-6.
14. Pichon MF, Pallud C, Brunet M, Milgrom E. Relationship of presence of progesterone receptors to prognosis in early breast cancer. *Cancer Res*. 1980 Sep;40(9):3357-60.
15. Clark GM. Fatores prognosticos e preditivos. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, editors. *Doenças da Mama* 2a ed: MEDSI Editora Medica e Cientifica; 2002.
16. Oka H, Kondoh T, Seichi A, Hozumi T, Nakamura K. Incidence and prognostic factors of Japanese breast cancer patients with bone metastasis. *J Orthop Sci*. 2006 Jan;11(1):13-9.
17. Wedin R, Skoog L, Bauer HC. Proliferation rate, hormone receptor status and p53 expression in skeletal metastasis of breast carcinoma. *Acta Oncol*. 2004;43(5):460-6.

18. Amadori D, Casadei Giunchi C, Maltoni R. Uso clínico dos fatores prognósticos e preditivos de resposta ao tratamento. In: Veronesi U, Luini A, Costa A, Andreoli C, editors. Mastologia Oncológica: Medsi; 2002. p. 429-34.

**ASSOCIATION BETWEEN BONE METASTASIS AND PROGNOSTIC  
FACTORS IN BREAST CANCER**

Anselmi, CE; Graudenz, MS; Caleffi, M, Barcellos, MC; Silveira, GPG

**Keywords:** breast cancer, bone metastasis, hormone receptors, estrogen receptors,  
progesterone receptors

**Synopsis:** the utilization of the immunohistochemical results, in particular hormone receptors, may prompt bone metastasis screening, besides the classical parameters of tumor size and the presence of axillary metastatic lymph nodes.

## ABSTRACT

**Objective:** bone is a frequent site of metastasis in patients with breast cancer. Bone screening is indicated depending on primary tumor size and axillary lymph node status, not on the immunohistochemical results. The objective of this study is to compare the classical prognostic factors and immunohistochemical results in breast cancer patients with and without bone metastasis.

**Materials and methods:** from a 40 patients per group sample size, 40 patients and 47 without with bone metastasis were selected from the bone scintigraphy database over the years 2000-2005. Tumor size, number of metastatic lymph nodes, histologic type, tumor grade, expression of estrogen and progesterone receptors, p53, ki-67, c-erb-b2 and the presence of lymphatic or blood vessels invasion was compared by uni and multivariate analysis.

**Results:** uni and multivariate analysis showed a significant association between tumor size ( $p=0.031$ ), the presence of estrogen receptors ( $p=0.034$ ) and the absence of progesterone receptors ( $p=0.032$ ) and an increased risk of bone metastasis. The presence of metastatic axillary lymph nodes indicated a trend towards an increased risk of bone metastasis ( $p=0.058$ ). Age histology, tumor grade, expression of ki-67, p53, c-erb-b2 or lymphovascular invasion were not predictors of bone metastasis.

**Conclusion:** it is feasible that patients with positive estrogen receptors and/or negative progesterone receptors comprise a groups with increased risk of bone metastasis, independently of the clinical staging (tumor size and axillary status).

## INTRODUCTION

Bone metastases occur in 8% of all patients with breast cancer, and in approximately 70% of patients with advanced disease(1). Thirty to 85% of the patients develop metastasis, and bone is the first site in 26% to 50%(2, 3).

The risk of bone metastasis in bone scintigraphy is 0%-0.8% in stage I, 2.6%-3% in stage II, 7%-16.8% in stage III and 40.5%-47% in stage IV(2, 4-6). A meta-analysis on the use of bone scan in 5407 patients evidenced metastasis in 0.5% of patients in stage I, 2.4% in stage II and 8.3% in stage III(7). The usual criteria to indicate a bone scan is the primary tumor size and the presence of metastatic axillary lymph nodes(7).

The pathologic analysis of breast cancer is not restricted to size or lymph nodes. The routine analysis includes the evaluation of hormone receptors (estrogen and progesterone), the expression of ki-67, p53 and c-erb-b2 (Her2). The prognosis and the disease-free survival of breast cancer patients depend mainly on the axillary status, followed by tumor size and, more recently, by the predictive factors such as hormone receptor status and the expression of c-erb-b2, although these are not considered when indicating a bone scan(8, 9).

The objective of this research is to evaluate if the immunohistochemical results (estrogen and progesterone receptors, expression of ki-67, p53 and c-erb-b2) add prognostic value to the classic staging criteria (tumor size and lymph node status) in the risk evaluation of bone metastasis in patients with breast cancer.



## MATERIAL AND METHODS

This is a transversal, single center, retrospective study.

### **Patients**

Between 2000 e 2005, 2702 female patients with breast cancer underwent metastatic survey by bone scan in our center through the Brazilian public health system (SUS – Sistema Único de Saúde). All reports were reviewed and anatomopathologic results including immunohistochemistry were included in a database (Microsoft Access, Redmond, WA. USA). Sample size was calculated by a sample of the progesterone receptor status in 292 patients, considering  $p=0.05$  and the smallest difference of 15% in the expression of the receptor in order to discriminate patients with and without metastasis. Sample size for each group was 40.

In alphabetical order, the first 40 patients with metastatic bone scans were selected and their medical records reviewed. Next, in alphabetical order, the records of the first 47 patients with normal or equivocal bone scans were reviewed to rule out metastasis. Inclusion criteria were: 1)invasive breast cancer; 2)follow-up of, at least, 1 year; 3)radiologic study confirming or excluding findings in equivocal bone scans. Patients with history of previously treated cancer, bilateral breast cancer or carcinoma *in situ* were excluded.

### **Bone scintigraphy and radiologic studies**

Bone scans were performed 3 hours after venous administration of  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP (methylene diphosphonate), in a Siemens Ecam gamma camera equipped with a high resolution collimator. Whole body scans were obtained in the anterior and posterior

projections and spot images of regions of particular interest were obtained at the nuclear physician's discretion.

The pattern of multiple focal areas of increased uptake, with random distribution, predominantly in the axial skeleton, was regarded as positive for bone metastasis. When the bone scan showed equivocal areas, solitary lesions or when radiological investigation was suggested, x-ray of the abnormal area was obtained. Few patients underwent computed tomography. Abnormal lytic or blastic areas in x-ray were considered positive for bone metastasis. When radiological studies did not evidence abnormalities, a minimum 1 year follow-up without symptoms or signs of disease progression was utilized in order to rule the bone scan result as false positive.

#### **Pathology and immunohistochemistry**

Information retrieved from the pathology reports were tumor size, histologic type, tumor grade and invasion of lymphatic or blood vessels.

Fractions of the tumor were stained with hematoxylin-eosin. The tumor was graded based on the Elston-modified system of Blomm and Richardson, which considers the percentage of tubule formation, nuclear pleomorphism and the number of mitosis per high-power field(10).

Axillary lymph nodes were isolated and analyzed through one histologic section and stained with hematoxylin-eosin. Sentinel lymph nodes, when the technique was performed, were totally included in paraffin and examined with 5 microns sections.

The most representative paraffin blocks were selected for immunohistochemical analysis. Five micrometer-thick sections were deparaffinized at 60° C for 30 minutes, immersed in xylol in two 5 minutes steps, dehydrated in descending alcohol series (90%,

70% and 50%) and washed in distilled water. Antigenic recovery was performed in a sodium citrate solution (pH 6.0) at 92° C for 40 minutes. Endogenous peroxidase activity was blocked by two 10 minutes immersion in methanol plus oxygenated water protected from light exposure. Nonspecific bindings were blocked with innocuous protein solution (Dako – Protein Block Serum-free). Slides were incubated with the primary antibodies at 4° C. The following Dako antibody clones were used: estrogen receptors: 1D5; progesterone receptors: PgR636; ki-67: MIB-1; p53: DO-7; c-erb-B2: polyclonal clone. Dilution of all antibodies was 1:100.

### **Statistical analysis**

The statistical analysis was performed with SPSS (version 13, SPSS, Chicago, IL, USA). Statistical significance was considered when  $p < 0.05$ . Univariate analysis was performed by logistic regression of age, tumor size, histologic type, number of positive lymph nodes, status of estrogen receptors, status of progesterone receptors, ki-67 expression, p53 expression, c-erb-b2 expression, lymphatic or vascular invasion and tumor grade. From the statistically significant variables or with strong trend, a logistic regression multivariate analysis was performed.

### **RESULTS**

In this study, 40 patients with and 47 without bone metastasis were included. Table 1 shows the characteristics of these patients.

Table 1: Characteristics of the patients

	Bone metastasis	No metastasis
Number of patients	40	47
Age	Average: 56,8 (23-88) Median: 54,5	Average: 56,2 (29-85) Median: 55
Tumor		
• Size	Average: 4,64 cm (1,0-16) Median: 3,5 cm	Average: 2,98 cm (1,0 – 10,0) Median: 2,5 cm
• T1	5 (13,5%)	9 (23,0%)
• T2	14 (37,8%)	21 (53,8%)
• T3	6 (16,2%)	3 (7,6%)
• T4	12 (32,4%)	6 (15,3%)
Positive lymph nodes	Average: 8,67 (0-29) Median: 8	Average: 3,0 (0-19) Median: 1,5
• N0	4 (11,4%)	15 (36,6%)
• N1	10 (28,5%)	14 (34,1%)
• N2	13 (37,1%)	9 (22,0%)
• N3	8 (22,8%)	3 (7,3%)
Clinical stage		
• I	2,78%	15,38%
• II	27,78%	41,03%
• III	69,44%	43,59%
Histology		
• Ductal infiltrating carcinoma	35 (87,5%)	39 (83%)
• Lobular infiltrating carcinoma	5 (12,5%)	8 (17%)
Tumor grade		
• I	4 (16,0%)	3 (8,3%)
• II	11 (44,0%)	15 (41,7%)
• III	10 (40,0%)	18 (50,0%)
Estrogen receptor		
• % patients with positive receptors ( $\geq 10\%$ )	75%	59,6%
Progesterone receptor		
• % patients with positive receptors ( $\geq 10\%$ )	45,0%	69,6%
ki-67 expression		
• % patients with positive receptors ( $\geq 20\%$ )	64,1%	48,9%
p53 expression		
• % patients with positive receptors ( $\geq 10\%$ )	28,2%	23,4%
c-erb-b2 expression		
• % patients with positive receptors ( $\geq 10\%$ )	31,4%	37,0%
Lymphovascular invasion	67,5%	55,3%
Neoadjuvant chemotherapy	7 (17,5%)	8 (17,0%)

### Univariate analysis

Univariate analysis (table 2) evidenced that patients with larger tumors have an increased risk of bone metastasis. An increased risk was also seen in patients with positive estrogen receptors and in patients with negative progesterone receptors. An increase in the number of metastatic axillary lymph nodes showed a trend towards a positive association, but p was not significant (0.053).

No statistically significant association was evidenced regarding age, histology, tumor grade, ki-67, p53 or c-erb-b2 expression, presence of lymphovascular invasion or neoadjuvant chemotherapy.

### Multivariate analysis

Multivariate analysis (table 2) was performed considering the predictors statistically significant or with strong trend found in the univariate analysis. An increase in the tumor size, estrogen receptor expression and lack of progesterone receptors remained as bone metastasis predictors. Each 1 cm increase in tumor size was associated with a 30% increased risk of bone metastasis. Axillary lymph node status had a strong trend towards bone metastasis, although not significant ( $p=0.058$ ). Lack of progesterone receptors was associated with a 4,9 times increased probability of bone metastasis.

Table 2: Predictive factors for bone metastasis

Predictive factor	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	<i>Odds Ratio</i> (CI 95%) <sup>†</sup>	<i>p</i>	<i>Odds Ratio</i> (CI 95%) <sup>‡</sup>	<i>p</i>
Age	1,002 (0,974;1,032)	0,873	-	-
Histology	0,696 (0,208;2,328)	0,557	-	-
Tumor size	1,317 (1,055;1,644)	0,015	1,322	0,031
Number of positive lymph nodes	1,194 (1,079;1,322)	0,053	1,116	0,058
Stage	II 3,750 (0,391;35,923)	0,252		
	III 8,824 (0,973;80,019)	0,053		
Estrogen receptors	2,036 (0,809;5,123)	0,131	5,523	0,034
Progesterone receptors	0,358 (0,148;0,867)	0,023	0,203	0,032
ki67	2,007 (0,831;4,843)	0,121	-	-
p53	1,333 (0,504;3,529)	0,562	-	-
Lymphovascular invasion	1,678 (0,698;4,031)	0,247	-	-
Neoadjuvant chemotherapy	1,034 (0,339;3,154)	0,953	-	-
c-erb-b2	0,782 (0,308;1,985)	0,605	-	-
Tumor grade	II 0,550 (0,102;2,972)	0,487		
	III 0,417 (0,077;2,246)	0,308	-	-

<sup>†</sup> Non adjusted *Odds Ratio*. <sup>‡</sup> adjusted *Odds Ratio*. *CI*: confidence interval

## DISCUSSION

The most common metastatic site in breast cancer is the bone. The efficacy of metastatic survey has been extensively studied, and a routine workup is not cost-effective, since only 0.6% of asymptomatic patients will have a positive exam. Also, no benefit in the 5 year survival has been shown in patients who underwent intensive survey. Nevertheless, metastatic workup is indicated in symptomatic patients or that harbor an increased risk. The identification of further risk factors, independently of staging, might establish the need for bone scans, even in stage I asymptomatic patients.

The presence of estrogen receptors in this study had a statistically significant association with bone metastasis ( $p=0.034$ ), raising the risk 5 times (confidence interval: 1.324 – 24.262). This finding is in contrast to what is described in trials which evaluated hormone or chemotherapeutic treatments, which describe disease-free interval and overall survival. However, these trials did not aim to evaluate patients with high or low risk of developing bone metastasis. Conversely some authors suggest that tumors with positive estrogen receptors have a greater probability to present initially with bone and soft tissue metastasis, while patients with negative receptors usually metastasize to brain and liver(11). Quasi et al, 1984, observed a high frequency of bone metastasis in patients with positive estrogen receptors (60.4%) in relation to patients with negative receptors (13.4%)(12).

The absence of progesterone receptors had a statistically significant association with bone metastasis ( $p=0.032$ ), with a 4.9 times increased risk (confidence interval: 0.04 – 0.674). This finding is different from what Ho and Chan, 2005, described. They report



on the positive association between progesterone receptors and bone metastasis. This was not evident in the uni or multivariate analysis, but was found in the forward-stepwise logistic regression(13). A worst prognosis and a 3 times greater risk of bone metastasis in patients with negative progesterone receptors was found by Pichon et al, 1980(14). Progesterone receptors are associated with overall survival and are possibly a better therapy response indicator(15, 16). Patients with bone metastasis which have positive estrogen receptors have better overall survival trend than those patients which bone metastasis lack the receptor(17).

The findings of this study are according to the literature, which states that an increase in tumor size and in the number of positive lymph nodes are associated with an increased risk of bone metastasis.

The expression of c-erb-b2 is associated with a worse disease-free and overall survival in patients with positive lymph nodes, but its prognostic value is less important in patients with negative lymph nodes. The expression of p-53 is related to a worse prognosis regarding disease-free and overall survival. The prognostic significance of ki-67 is still debated due to the heterogeneity of the trials(18). Conversely, this study did not find an association between the expression of p53, ki-67 and c-erb-b2 with bone metastasis.

This study has some limitations: 1) adjuvant treatments (chemo or hormone therapy) were not considered; 2) some patients had more than one type of treatment, usually because of disease progression; 3) menstrual status was not accessed; 4) metastatic patients were selected from scintigraphic reports with usual multi-metastatic patterns.

From the results here presented, it is possible that the indication of metastatic workup be determined not only by the usual staging guidelines, but also by data from immunohistochemical analysis, namely the status of estrogen and progesterone receptors. In this way, early stage patients, with small tumors and negative lymph nodes might have an increased risk of developing bone metastasis if they present positive estrogen receptors and negative progesterone receptors.

## **CONCLUSION**

The analysis of this sample allows the hypothesis that an increased risk of bone metastasis in patients with positive estrogen receptors and or negative progesterone receptors might exist. Our data was in accordance to the literature regarding the direct relation of bone metastasis, tumor size and lymph node status. More studies are necessary in order to confirm these findings, with the proper design: prospective, larger sample and paired by stage.

## REFERENCES

1. Coleman RE, Rubens RD. The clinical course of bone metastases from breast cancer. *Br J Cancer*. 1987 Jan;55(1):61-6.
2. Hamaoka T, Madewell JE, Podoloff DA, Hortobagyi GN, Ueno NT. Bone imaging in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2004 Jul 15;22(14):2942-53.
3. Solomayer EF, Diel IJ, Meyberg GC, Gollan C, Bastert G. Metastatic breast cancer: clinical course, prognosis and therapy related to the first site of metastasis. *Breast Cancer Res Treat*. 2000 Feb;59(3):271-8.
4. Coleman RE, Rubens RD, Fogelman I. Reappraisal of the baseline bone scan in breast cancer. *J Nucl Med*. 1988 Jun;29(6):1045-9.
5. Yeh KA, Fortunato L, Ridge JA, Hoffman JP, Eisenberg BL, Sigurdson ER. Routine bone scanning in patients with T1 and T2 breast cancer: a waste of money. *Ann Surg Oncol*. 1995 Jul;2(4):319-24.
6. Maffioli L, Florimonte L, Pagani L, Butti I, Roca I. Current role of bone scan with phosphonates in the follow-up of breast cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2004 Jun;31 Suppl 1:S143-8.
7. Myers RE, Johnston M, Pritchard K, Levine M, Oliver T. Baseline staging tests in primary breast cancer: a practice guideline. *Cmaj*. 2001 May 15;164(10):1439-44.
8. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lancet*. 1998 May 16;351(9114):1451-67.
9. Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *Oncologist*. 2004;9(6):606-16.

10. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991 Nov;19(5):403-10.
11. Elledge RM, Fuqua SAW. Receptores de Estrogênio e Progesterona. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, editors. *Doenças da Mama* 2a ed: MEDSI Editora Medica e Cientifica; 2002. p. 565-86.
12. Qazi R, Chuang JL, Drobyski W. Estrogen receptors and the pattern of relapse in breast cancer. *Arch Intern Med*. 1984 Dec;144(12):2365-7.
13. Ho YY, Chan YH. Predictors of a positive baseline bone scan in breast cancer. *Australas Radiol*. 2005 Feb;49(1):21-6.
14. Pichon MF, Pallud C, Brunet M, Milgrom E. Relationship of presence of progesterone receptors to prognosis in early breast cancer. *Cancer Res*. 1980 Sep;40(9):3357-60.
15. Clark GM. Fatores prognosticos e preditivos. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, editors. *Doenças da Mama* 2a ed: MEDSI Editora Medica e Cientifica; 2002.
16. Oka H, Kondoh T, Seichi A, Hozumi T, Nakamura K. Incidence and prognostic factors of Japanese breast cancer patients with bone metastasis. *J Orthop Sci*. 2006 Jan;11(1):13-9.
17. Wedin R, Skoog L, Bauer HC. Proliferation rate, hormone receptor status and p53 expression in skeletal metastasis of breast carcinoma. *Acta Oncol*. 2004;43(5):460-6.

18. Amadori D, Casadei Giunchi C, Maltoni R. Uso clínico dos fatores prognósticos e preditivos de resposta ao tratamento. In: Veronesi U, Luini A, Costa A, Andreoli C, editors. Mastologia Oncológica: Medsi; 2002. p. 429-34.

## PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



### Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

Rua Prof. Annes Dias, 285 - Telefone: (51) 3214.8080 - Fax: (51) 3214.8585  
CEP 90020-090 - Porto Alegre - Rio Grande do Sul - CNPJ: 92815000/0001-68  
Site: www.santacasa.org.br - E-mail: marketing@santacasa.tche.br



Compromisso com a excelência

#### PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer Complementar nº 308/06

Protocolo nº 1347/06

Título: "Associação entre metástases ósseas e fatores em câncer de mama invasivo"

Pesquisador Responsável: Carlos Eduardo Anselmi

Instituição onde se realizará – Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

Data de Entrada: 05/07/06

Data da Reavaliação: 11/09/06

**II - Objetivos** – Determinar se os indicadores prognósticos e preditivos estão associados a um risco maior de metástases ósseas detectadas pela cintilografia óssea em um grupo de mulheres portadoras de Câncer de mama em estádios II, III e IV.

#### III - Sumário do Projeto

**Descrição e caracterização da amostra:** Mulheres com câncer de mama diagnosticado e provenientes do Ambulatório de Mastologia do Hospital Santa Clara e do Hospital Santa Rita do Complexo Hospitalar Santa Casa, entre os anos de 2001 a 2005.

#### Critérios de inclusão:

- Mulheres portadoras de câncer de mama invasor;
- Follow-up do ambulatório de mastologia de, pelo menos 1 ano;
- Exame anatomopatológico completo, incluindo imunohistoquímica e receptores hormonais;
- Estádios II, III e IV;
- Cintilografia óssea realizada em data próxima ao tratamento;
- Estudo radiológico, patológico ou seguimento de, ao menos 1 ano, confirmando os achados da cintilografia.

#### Critérios de exclusão:

- Tratamento prévio de câncer de mama (quimioterapia neo ou adjuvante há mais de 6 meses);
- Quimioterapia neoadjuvante há mais de 6 meses;
- Outro câncer tratado previamente.

**Adequação das condições** - Hospital escola com infra-estrutura adequada para a realização do estudo descrito.

#### IV -Comentários:

- **Justificativa do uso de placebo** – não se aplica.
- **Análise de riscos e benefícios** – adequado.
- **Adequação do termo de consentimento e forma de obtê-lo** – Adequado.

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/ISCMPA Fone/Fax (51) 3214-8571 – e-mail:cep@santacasa.tche.br  
Reconhecido: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP / Ministério da Saúde  
IRB – Institutional Review Board pelo U.S. Department of Health and Human Services (DHHS)  
Office for Human Research Protections (ORPH) sob número - IRB00002509.  
FWA – Federalwide Assurance sob número - FWA00002949.



## Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

Rua Prof. Annes Dias, 285 - Telefone: (51) 3214.8080 - Fax: (51) 3214.8585  
CEP 90020-090 - Porto Alegre - Rio Grande do Sul - CNPJ: 92815000/0001-68  
Site: www.santacasa.org.br - E-mail: marketing@santacasa.tche.br



Compromisso com a excelência

- Informação adequada quanto ao financiamento – adequado

- Outros centros no caso de estudos multicêntricos – não se aplica

V -Parecer : “Após reavaliação das alterações acima descritas, o presente comitê não encontrou óbices quanto ao desenvolvimento do estudo em nossa Instituição”.

VI -Data da Reunião: 01/08/06

VII -Data da Reavaliação: 11/09/06

“Projeto e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, Aprovados”.

Obs.: 1 - O pesquisador responsável deve encaminhar à este CEP, Relatórios de Andamento dos Projetos desenvolvidos na ISCMPA. Relatórios Parciais (pesquisas com duração superior à 6 meses), Relatórios Finais (ao término da pesquisa) e os Resultados Obtidos (cópia da publicação).

2 – Para o início do projeto de pesquisa, o investigador deverá apresentar a chefia do serviço (onde será realizada a pesquisa), o Parecer Consubstanciado de aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética.

Porto Alegre, 11 de setembro de 2006.

Dr. Cláudio Teloken  
Coordenador do CEP-ISCMPA

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/ISCMPA Fone/Fax (51) 3214-8571 – e-mail:cep@santacasa.tche.br  
Reconhecido: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP / Ministério da Saúde  
IRB – Institutional Review Board pelo U.S. Department of Health and Human Services (DHHS)  
Office for Human Research Protections (ORPH) sob número - IRB00002509.  
FWA – Federalwide Assurance sob número - FWA00002949.



# 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](#)