

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

**Influência da quimioterapia neoadjuvante sobre a expressão dos  
marcadores imuno-histoquímicos no carcinoma primário de mama.**

**José Luiz Pedrini**

**Porto Alegre 2009**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

**Influência da quimioterapia neoadjuvante  
sobre a expressão dos marcadores imuno-  
histoquímicos no carcinoma primário de  
mama.**

*José Luiz Pedrini*

**Porto Alegre, 2009**

# **Influência da quimioterapia neoadjuvante sobre a expressão dos marcadores imuno-histoquímicos no carcinoma primário de mama.**

***José Luiz Pedrini***

**Orientador: Cláudio Galleano Zettler**

**Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação  
em Patologia da Universidade Federal de Ciências  
da Saúde de Porto Alegre como requisito para a  
obtenção do grau de Doutorado.**

**Porto Alegre, 2009**

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho às mulheres portadoras de câncer de mama, em especial às que dedicam parte do seu tempo ao voluntariado, transformando seu drama pessoal numa ação de ajuda às outras mulheres e aos Serviços de Medicina.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Serviço de Patologia do Hospital Nossa Senhora da Conceição e aos seus funcionários, especialmente à Elaine e à Clair. Agradeço também ao Serviço de Patologia da Pós-Graduação da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, em especial à Rosalva e Teresinha.

*“A ciência exercita a capacidade, não o saber.”*

Friedrich Nietzsche

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	7
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE ABREVIATURAS .....	12
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA .....	17
2.1 Epidemiologia.....	17
2.2 Fatores de risco.....	19
2.3 Patologia do carcinoma invasor.....	20
2.3.1 Apresentação clínico-patológica.....	21
2.4 Fatores prognósticos e preditivos .....	22
2.4.1 Avaliação histopatológica.....	22
2.4.2 Outros fatores.....	24
2.4.3 Marcadores imuno-histoquímicos usados no estudo.....	25
2.4.3.1 receptores hormonais.....	25
2.4.3.2 expressão de HER2-neu.....	26
2.4.3.3 prolactina.....	27



<b>2.5 Neoadjuvância sistêmica.....</b>	<b>28</b>
<b>2.5.1 Impacto na melhora das condições cirúrgicas .....</b>	<b>32</b>
<b>2.5.2 Avaliação do potencial de resposta tumoral.....</b>	<b>35</b>
<b>2.5.3. Benefícios na sobrevida.....</b>	<b>37</b>
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>38</b>
<b>3.1 PRIMÁRIO .....</b>	<b>38</b>
<b>3.2 SECUNDÁRIO. ....</b>	<b>38</b>
<b>4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>39</b>
<b>5 ARTIGO CIENTÍFICO EM PORTUGUÊS.....</b>	<b>50</b>
<b>6 ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS.....</b>	<b>93</b>
<b>7 ANEXOS.....</b>	<b>125</b>

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** – Variedades histológicas mais comuns do carcinoma invasor de mama.

**Tabela 2** - Avaliação da estratégia multidisciplinar com tratamento sistêmico de indução.

**Tabela 3.-** Características da amostra.

**Tabela 4** – Comparação entre o perfil da expressão imuno-histoquímica dos marcadores pré e pós-QT.

**Tabela 5** – Número e percentagem de casos segundo a classificação molecular dos tumores de mama.

**Tabela 6** – Resposta patológica tumoral à QT neoadjuvante dos grupos classificados conforme seu subtipo molecular – n(%).

**Tabela 7** – Mudança na expressão imuno-histoquímica do HER2-neu, receptores de estrogênio, progesterona e prolactina nos tumores pré e pós-quimioterapia neoadjuvante.

**Tabela 8** – Correlação entre resposta tumoral e a expressão imuno-histoquímica dos marcadores pré e pós-quimioterapia – n(%).

**Tabela 9** – Correlação entre grau histológico tumoral e expressão imuno-histoquímica dos marcadores pré e pós-quimioterapia – n(%).

**Tabela 10** – Correlação da expressão de prolactina com os subtipos moleculares e a resposta patológica tumoral n(%).

**Tabela 11** – Correlação entre grau histológico e resposta patológica tumoral – n(%).

**Tabela 12** – Correlação entre tamanho tumoral e resposta patológica.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** - Padrões de Resposta ao Tratamento Neoadjuvante.

**Figura 2 A** - Mamas grandes e ptóticas com mamas acessórias axilares e nódulo maligno medindo 6 cm na junção dos quadrantes inferiores da mama esquerda.

**Figura 2 B** – Pós-operatório de cirurgia conservadora mama esquerda com técnica de mamoplastia redutora com pedículo areolado superior e simetrização mama direita.

**Figura 2 C** - Cicatriz axilar transversa após esvaziamento axilar com exereses concomitantes de mama acessória axilar.

**Figura 3 A** -Tumor palpável de mama esquerda.

**Figura 3 B** - Resposta parcial após 3º ciclo quimioterápico.

**Figura 4** - Gráfico da descrição do percentual de pacientes com resposta patológica dentro dos diferentes subtipos de tumores.

**Figura 5** – Imunoexpressão nuclear do Receptor de Estrogênio positivo em >95% das células do carcinoma de mama pós-quimioterapia. ( X 100)

**Figura 6** – Imunoexpressão nuclear do Receptor de Estrogênio positivo em 90% das células em carcinoma de mama pré-quimioterapia (X100).

**Figura 7** – Imunoexpressão do Receptor de Progesterona com 80% de positividade em carcinoma de mama pós-quimioterapia (X 100).

**Figura 8** – Imunoexpressão do Receptor de Progesterona com >90% de positividade nuclear em carcinoma de mama pré-quimioterapia – tanto no componente invasor quanto no componente intraductal (X40).

**Figura 9** – Ausência de imunoexpressão para receptor de prolactina em carcinoma de mama após quimioterapia (X100).

**Figura 10** – Imunoexpressão com coloração citoplasmática para Receptor de Prolactina em carcinoma de mama pré-quimioterapia (X100).

**Figura 11** - Coloração negativa da membrana celular para o HER2-neu no componente invasor de carcinoma de mama e positiva escore 3 no componente intraductal, pré-quimioterapia (X40).

**Figura 12** – Imunoexpressão de membrana do Receptor de HER2-neu 3 cruces de positividade em carcinoma de mama pós-quimioterapia (X100).

## LISTA DE ABREVIATURAS

AC: adriamicina + ciclofosfamida;

AJCC: *American Joint Comitee of Cancer*;

BRCA 1: *Breast Cancer 1 gene*;

BRCA 2: *Breast Cancer 2 gene*;

CDI NE: carcinoma ductal invasor tipo não especial;

CIE: componente intraductal extenso;

CDIS: carcinoma intraductal ou *in situ*;

CLI: carcinoma lobular invasor;

CMF: ciclofosfamida, methotrexato, 5 fluorouracil;

CGA: campos de grande aumento;

FAC: 5 fluorouracil, adriamicina, ciclofosfamida;

HSP70: *Heat Shock Protein 70*;

HE: hematoxilina-eosina;

HER2-neu: receptor do fator de crescimento 2;

HT: hormonioterapia;

IEO: Instituto Europeu de Oncologia;

IHQ: imuno-histoquímica;

INCA: Instituto Nacional do Câncer;

IGF-1: Fator de crescimento insulina-*like*;

MDR1: gene de resistência a múltiplas drogas;

NSABP: national surgical adjuvant breast and bowel project;

NCCN: *National Comprehensive Cancer Network*;

NCI: *National Cancer Institute*;

OMS: Organização Mundial de Saúde;

PTEN: gene que codifica proteína *phosphatase and tensin homolog*;

PBS: solução salina de fosfato de sódio;

QT: quimioterapia;

RT: radioterapia;



RE: receptor de estrogênio;

RP: receptor de progesterona;

RH: receptores hormonais;

RPrI: receptor de prolactina;

RPC: resposta patológica completa;

RECIST: *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*.

SPSS: statistical package for the social sciences;

TNF alfa: Fator de necrose tumoral alfa;

TNM: Sistema de estadiamento de câncer, T – tamanho tumoral, N – estado linfonodos regionais, M – metástases à distância;

UICC: International Union Against Cancer

## 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 relevantes disponíveis no momento de tomada de decisão. (Viale 2003) Alguns fatores clínicos (idade da paciente), patológicos (tipo histológico, tamanho, grau histológico e nuclear tumoral e estado dos linfonodos axilares) e biológicos (estado dos receptores de estrogênio e, progesterona, HER2-neu e índices proliferativos) dos tumores primários são considerados fatores prognósticos e preditivos bem estabelecidos para avaliar o risco de progressão da doença e são fundamentais na escolha das intervenções adjuvantes.(Fukutomi e Adashi-Tanaka 2002, Goldhirsch et al 2009)

Atualmente, cada vez mais pacientes estão sendo tratados com quimioterapia (QT) e hormonioterapia (HT) antes do tratamento cirúrgico e em estágios mais precoces de carcinomas de mama operáveis. Muitas vezes a biópsia por fragmento é a única amostra usada para avaliar os marcadores prognósticos e preditivos previamente ao tratamento sistêmico neoadjuvante. (Burge et al 2006)

Como o câncer de mama tem uma grande variedade de achados histológicos e imuno-histoquímicos (IHQ), a concordância e as possíveis mudanças entre os achados da biópsia pré-QT e das peças cirúrgicas definitivas pós-QT constituem

um desafio ao patologista e à decisão clínica do mastologista. (Renault-Llorca et al 2008, Puztai 2008, Sahoo et al 2009). Essa possível mudança no perfil IHC após intervenção terapêutica no tumor primário já foi demonstrada em estudos que compararam tumores primários e suas respectivas recorrências locais, conforme descrito por Pedrini et al (Pedrini et al 2004), bem como em trabalhos que analisaram a expressão imuno-histoquímica do tumor primário e contrastaram os resultados com suas metástases axilares. (Koda 2007)

Além disso, identificar fatores preditivos de resposta ao tratamento sistêmico primário pode ter considerável potencial clínico e o futuro do tratamento neoadjuvante passa pela sua individualização através de terapias alvo. (Miglietta et al 2009). O papel de marcadores histológicos e imuno-histoquímicos já padronizados, e também de novos, vêm sendo extensamente estudados com este objetivo. (Renault-Llorca et al 2008, Nishimura et al 2009, Shien et al 2009)

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 EPIDEMIOLOGIA

O câncer de mama tem um enorme impacto na saúde da mulher. Sua incidência e a mortalidade variam consideravelmente pelo mundo, é mais incidente (>80 por 100.000) em regiões desenvolvidas e menos (<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 entre detecção precoce, com a introdução do rastreamento por mamografia, e os avanços no tratamento. (Parkin e Fernandez 2006, Smigal et al 2006)

O câncer de mama permanece como o segundo tipo de câncer mais frequente no mundo e o primeiro entre as mulheres. Apesar dos esforços na detecção precoce e os avanços terapêuticos, a sobrevivência mundial em 5 anos situa-se em 61%. No Brasil, é o câncer que mais causa morte entre as mulheres e a segunda neoplasia mais incidente no país. Sua estimativa de incidência em 2008 foi de 51

casos a cada 100 mil, perfazendo um total de 49.400 novos casos. Na Região Sul, o câncer de mama é o mais incidente entre as mulheres, com uma estimativa de 67 novos casos por 100 mil mulheres. Só no Rio Grande do Sul, 4.880 novos casos foram diagnosticados em 2008 (INCA 2008).

A incidência da neoplasia cresce continuamente com o aumento da faixa etária. Entretanto, a curva de aumento do número de casos apresenta sua maior aceleração durante as 5ª e 6ª décadas de vida (Porter et al 2001). 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. (Dumitrescu e Cotarla 2005) A grande variação da incidência do câncer de mama no mundo pode ser atribuída às diferenças genéticas e/ou estilo de vida. 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. (Dumitrescu e Cotarla 2005 Esses fatores são transmitidos às gerações subsequentes e os descendentes assumem o risco da população nativa para a doença rapidamente, dentro de uma a duas gerações. (McPherson et al 2000)

A deficiência de registro em países subdesenvolvidos impede uma estimativa acurada da distribuição por estadiamento na apresentação; em países desenvolvidos a maioria dos novos casos já é identificado exclusivamente por

programas de rastreamento há mais de uma década (American Cancer Society, 2006).

## **2.2 FATORES DE RISCO**

Os fatores comportamentais que influenciam no risco do câncer de mama estão melhor estabelecidos e sua relação com a fisiopatologia da doença melhor definida. No entanto, a importância e a força de associação de cada um deles é fonte de discussão e controvérsia entre os pesquisadores.

Entre esses fatores pode-se incluir a idade do paciente, sua localização geográfica (país de origem) e nível sócio-econômico. Os eventos reprodutivos, o uso de hormônios exógenos, associado ao estilo de vida (álcool, dieta, obesidade e atividade física) também são citados. A história familiar de câncer de mama, história de doenças benignas da mama, de radiação ionizante prévia, a densidade óssea, a densidade mamográfica, o peso, os níveis de IGF-1 e prolactina, o uso de 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) - também são implicados.(Dumitrescu e Cotarla 2005)

## 2.3 PATOLOGIA DO CARCINOMA INVASOR

O carcinoma invasor é um grupo heterogêneo de lesões, variam de acordo com sua apresentação clínica, aspectos radiográficos, características histológicas e agressividade biológica. Em comum, ocorre a infiltração do estroma mamário e potencial para comprometimento de estruturas circundantes e a possibilidade de metastatização. A seguir estão resumidas as variedades histológicas tumorais baseado em classificação da OMS. (Cotran et al 1999)

- 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

Tabela 1 – Variedades histológicas mais comuns do carcinoma invasor de mama.

O tipo histológico mais comum é o carcinoma ductal invasor tipo não especial (CDI NE). A classificação inclui também os carcinomas ductais invasores do tipo especial, que tem características histológicas distintas e devem mostrar os aspectos histológicos específicos de um tipo especial em pelo menos 90% do tumor, esses tumores compreendem 20-30% das lesões invasivas. Outros tipos histológicos são raros. (Harris et al 2004)

### **2.3.1 Apresentação clínico-patológica**

O CDI apresenta-se, na maioria das vezes, como massa palpável ou anormalidade mamográfica. Não há característica específica que o diferencie dos tipos especiais. Na macroscopia apresenta-se como nódulo ou massa firme e cirrosa, a superfície é arenosa, cinza-esbranquiçada, de contorno espiculado e com as margens irregulares. A aparência microscópica é muito heterogênea em relação ao seu desenvolvimento, análise citológica, atividade mitótica, reação desmoplásica e extensão da possível lesão intraductal associada. (Cotran et al 1999)

Por sua heterogeneidade, existem subclassificações das lesões infiltrantes. A forma mais utilizada é a graduação baseada nas características nucleares ou, alternativamente, em combinação com as arquiteturais. Em relação às nucleares, a mais usada é a de Black et al. (Cutler et al 1969) Na prática clínica, a graduação mais utilizada é a de Bloom e Richardson (Bloom e Richardson 1957), modificada por Elston e Ellis, (Elston e Ellis 1998) e é baseada em 3 critérios: a formação de túbulos, o pleomorfismo nuclear e a atividade mitótica. A expressão de



marcadores biológicos imuno-histoquímicos, como os receptores hormonais, fatores de crescimento, produtos de genes supressores e outros apresenta grande variabilidade. 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.(Bundred 2001)

## **2.4 FATORES PROGNÓSTICOS E PREDITIVOS**

O desfecho clínico do câncer de mama é extremamente variável. Apresenta desde longos períodos livres da doença até pacientes com rápida piora da condição clínica com precoce recidiva e morte. Esta variabilidade pode ser explicada por diferenças nas taxas de crescimento tumoral, capacidade de invasão, potencial metastático e outros mecanismos ainda pouco compreendidos. (Allred et al 1998) O conhecimento de marcadores biológicos que meçam essas funções será útil para que as pacientes possam ser agrupadas conforme os seus riscos de recorrência específicos.

### **2.4.1 Avaliação histopatológica**

Os CDI NE são as formas mais comuns de apresentação do câncer de mama, em torno de 80% de todos os carcinomas de mama diagnosticados e apresentam a maior incidência de linfonodos axilares comprometidos e

metástases à distância, com pior prognóstico clínico, quando comparados aos tipos especiais. (Elston e Ellis 1998, Cotran et al 1999)

A presença do **acometimento linfonodal** axilar e mamário são os preditores independentes de maior impacto prognóstico na neoplasia de mama (Saez et al 1989, Nemoto et al 1980). A relação entre a extensão desse comprometimento e um pior prognóstico é conhecida há bastante tempo (Nemoto et al 1980). O número de linfonodos comprometidos é utilizado como parâmetro de estimativa de risco para indicação da intensificação de estratégias de adjuvância sistêmica (Bu-Khalaf et al 2005, Battelli et al 2006) e foi incorporado como definidor de estadiamento na última revisão do *American Joint Committee* (Singletary et al 2002). Após o acometimento linfonodal o **tamanho tumoral** é o fator independente mais poderoso associado à ocorrência de doença metastática, com maior impacto nos tumores sem envolvimento axilar (Baehner 2006). Entretanto, tumores pequenos podem biologicamente apresentar alta capacidade proliferativa e metastática e deve-se levar em conta outros fatores conjuntamente para poder determinar seu prognóstico (Harris et al 2004)

Embora haja grande discussão e controvérsia em relação à inclusão no sistema atual de estadiamento (Singletary et al 2002), o **grau tumoral**, principalmente através da graduação histológica revisada por Elston e Ellis e o estadiamento nuclear de Fisher, persiste como importante preditor de tempo livre de doença pós-resssecção tumoral (Elston/Ellis 1998, Bundred, 2001, Horita et al 2001), mesmo considerando a pouco reprodutibilidade da análise interobservadores e a grande heterogeneidade clínica, principalmente entre as lesões consideradas moderadamente diferenciadas ou grau 2. (Ivshina et al 2006).

O próprio sistema TNM de estadiamento do câncer de mama tem sofrido críticas por classificar e agrupar pacientes com doenças possivelmente diferentes e, com isso, de prognósticos completamente diferentes. As informações sobre tamanho tumoral, comprometimento linfático regional e metástases à distância têm importantes implicações na terapia e no prognóstico das pacientes, porém informações adicionais como, por exemplo, o RE e RP, que atualmente serve como guia fundamental para o tratamento, não faz parte da Classificação TNMUICC. Outro aspecto que deve ser reavaliado diz respeito ao fato de que a biologia raramente é acompanhada de pontos de separação ou linhas divisórias. Assim sendo, uma informação básica como o tamanho do tumor não deveria ser apresentado como categorias, e sim como pontos de uma continuidade que conduz a uma informação prognóstica mais precisa.(Farante et al 2009)

Além disso, faz-se necessária uma classificação com uma linguagem precisa e sem ambigüidades, tanto para os médicos como para as pacientes, e que mantenha semelhança com a classificação TNMUICC, de modo a poder comparar e validar os novos casos com os anteriores. O Instituto Europeu de Oncologia (IEO) desenvolveu uma classificação TNM alternativa que visa facilitar a interpretação, reprodutibilidade e precisão no estadiamento do câncer de mama, inclusive com mudanças na terminologia referente ao carcinoma intraductal. (Farante et al 2009).

#### **2.4.2 Outros fatores**

A presença de componente intraductal extenso (CIE), invasão de vasos linfáticos, necrose tumoral e infiltrado de células mononucleares têm sido associados à evolução clínica, mas nenhum deles foi validado como fator prognóstico ou preditivo. (Harris et al 2004) Ao comparar o tratamento do carcinoma primário de mama em mulheres abaixo e acima de 40 anos, Hartley et al encontraram uma tendência a pior sobrevida global entre as mulheres com 40 anos ou menos, com achados desfavoráveis dos marcadores bioquímicos e estágio mais avançado ao diagnóstico e concluíram que essas mulheres têm pior prognóstico quando comparadas às mais velhas. (Hartley et al 2006) Entretanto, as possíveis razões para que as mulheres jovens desenvolvam formas mais agressivas de câncer de mama são motivo de controvérsia e permanecem obscuras. (Yankaskas 2005, Hartley et al 2006).

A sobrevida ao câncer de mama é menor entre negras em comparação às brancas.(Bowen et al 2006) A condição socioeconômica pior é relacionada ao pior resultado, embora a causa dessa associação não seja clara. Em estudo com apenas mulheres indigentes caucasianas e afro-americanas as disparidades raciais quanto ao prognóstico da doença essencialmente desapareceram. (Maloney et al 2006).

### **2.4.3 Marcadores imuno-histoquímicos usados no estudo.**

#### **2.4.3.1 Receptores Hormonais (RH)**

Os receptores de estrógeno (RE) e progesterona (RP) pertencem a uma família de receptores nucleares de hormônios e atuam como fatores de transcrição quando ativados por seus respectivos ligantes (Harris 2004). A positividade dos carcinomas de mama para RE varia entre 60-81% e, para os RP, entre 44-61% (Stierer et al 1993, Elliot et al 1994, Kuukasjarvi et al 1996). A expressão de RH está associada com a idade da paciente ao diagnóstico, sendo significativamente maior em tumores de mulheres pós-menopáusicas. A maioria dos tumores positivos para RP também são positivos para RE (Rosen 1997). A maioria dos autores mostra que existe uma associação positiva entre a presença dos RH e um prognóstico mais favorável (Mansour et al 1994, Beckmann et al 1996, Mauri et al 1999). A responsividade à terapia hormonal nos carcinoma de mama é diretamente proporcional à expressão imuno-histoquímica dos RH. Considerando-se globalmente a população com neoplasia metastática, a taxa de resposta tumoral objetiva situa-se entre 30-40% (McClelland et al 1986, Bezwoda et al 1991). O potencial de responsividade hormonal, expresso na quantificação de RE e RP, tem sido implicado como um dos principais definidores para decisão terapêutica em carcinoma de mama (Goldhirsch et al 2005).

#### 2.4.3.2 Expressão de HER2-neu

Os primeiros relatos da relação entre expressão aumentada de produtos dos genes Her2-neu e desfechos prognósticos clínicos em carcinoma de mama ocorreram há duas décadas (Slamon et al 1987). A imuno-histoquímica tem sido

sugerida como o padrão para avaliação desse fator, tanto pela factibilidade do método, quanto pelo potencial de detecção de casos particulares de aumento da expressão dos produtos relacionados com a estimulação celular na ausência de amplificação gênica (Tetu e Brisson 1994). Com essa técnica, a prevalência global de expressão aumentada no câncer de mama é de 20%, aumentado para 25% (de Potter e Schelfhout et al 1995) nos carcinoma ductais invasores e podendo chegar a 50% nos pacientes com carcinoma inflamatório (Sawaki et al 2006). O fenótipo tende a se manter durante toda a história natural de doença, sendo detectado um alto nível de concordância entre amostras do tumor primário e de seus sítios metastáticos (Burstein 2005). A análise retrospectiva de coortes de neoplasias de mama identificou uma associação positiva do HER2-neu amplificado com pouca diferenciação celular, alto grau, altas taxas mitóticas, acometimento linfonodal regional e uma maior resistência a alguns quimioterápicos (Burstein 2005). Há uma relação negativa entre a expressão de receptores hormonais e HER2-neu (Allred et al 1992, Tetu e Brisson et al 1994, Keshgegian 1995). O aumento de expressão é consistentemente associado a um pior prognóstico, expresso em maiores taxas de recorrência e menor sobrevida geral (Slamon et al 1987). O uso dos produtos da expressão do HER2-neu como alvo biológico terapêutico de anticorpos monoclonais humanizados tem tido sua eficácia terapêutica confirmada na doença metastática (Vogel et al 2002), na adjuvância (Piccart-Gebhart et al 2005) e, em estudos recentes, também na neoadjuvância, conforme demonstram os estudos NOAH (Gianni et al 2008), GeparQuattro (Untch et al 2008).

#### 2.4.3.3 Prolactina

A prolactina é um hormônio de produção primária hipofisária e que desempenha um papel essencial no crescimento, diferenciação e desenvolvimento normais da glândula mamária (de Castillo et al 2004, Tworoger e Hankinson 2006). Diversas evidências de experimentos *in vitro* tem implicado a prolactina em um papel na tumorigênese de vários tecidos, em especial carcinomas de mama (Janssen et al 1996). Mecanismos como promoção de proliferação celular, inibição da apoptose, aumento da motilidade celular e angiogênese tem sido sugeridos (Goffin et al 2005, Tworoger e Hankinson 2006) e seus efeitos estimulatórios sobre o ciclo celular parecem ser potencializados pelo estradiol (Gutzman et al 2004). Como a prolactina é produzida tanto por células mamárias normais quanto neoplásicas, a estimulação autócrina/parácrina é apontada como um dos mecanismos provavelmente envolvidos (Vonderhaar 1999, Tworoger e Hankinson 2006). Embora evidências apontem para uma relação positiva entre os níveis plasmáticos de prolactina, a sua expressão quantitativa no microambiente tumoral e seu risco de promoção e progressão tumoral, o entendimento desses mecanismos ainda é incompleto (Bhatavdekar et al 2000a, Clevenger et al 2003). A análise IHC no carcinoma de mama com positividade no citoplasma para prolactina ocorre em até 80% dos casos e é preditora independente de pior sobrevida (Bhatavdekar et al 2000a, Bhatavdekar et al 2000b).

## **2.5 NEOADJUVÂNCIA SISTÊMICA**

A QT neoadjuvante faz parte da chamada Estratégia de Tratamento Multidisciplinar, que consiste na associação da QT e/ou HT, primária ou adjuvante, associada ao tratamento locorregional, através da cirurgia e radioterapia (RT). Atualmente, o tratamento do câncer de mama, em especial o localmente avançado, é baseado nesse planejamento e a QT ocupa o papel central.

O tratamento sistêmico de indução apresenta muitas vantagens e também potenciais desvantagens, que são apresentadas no quadro 1. (Harris et al 2004) Os resultados de vários estudos documentam a efetividade da QT primária em pacientes com tumores maiores e comprometimento axilar (Hunt et al 1996, Valero et al 2002). O uso inicial de QT pré-operatória utilizando um antracíclico, com ou sem taxano, é o tratamento padrão. (Valero et al 2002, Bear et al 2006, Mathew et al 2007, NCCN, 2009) A redução do volume tumoral na mama e nos linfonodos regionais ocorrem em 60-80% dos pacientes (De Lena et al 1978, Swain et al 1987, Hortobagyi et al 1988) e a maioria com resposta tanto na lesão mamária quanto na axilar (Hortobagyi et al 1988, Fisher et al 1997). A resposta patológica completa (RPC) ocorre em 10-20% dos casos (Hortobagyi et al 1988, Cocconi et al 1990) e é relacionada a um melhor prognóstico (Jacquillat et al 1988). Essas mulheres são excelentes candidatas à conservação da mama, com ou sem intervenção cirúrgica. (Fisher et al 1998 Gonzalez-ângulo et al 2008, Mathew et al 2009).



VANTAGENS	DESVANTAGENS
Início precoce do tratamento sistêmico	Adiamento do tratamento local para pacientes que não respondem ao tratamento sistêmico.
Inibição do crescimento tumoral pós-cirúrgico.	Indução de resistência às drogas.
Ação quimioterápica ou hormonioterápica em vasculatura tumoral intacta.	Permanência de tumor volumoso na mama.
Avaliação da resposta tumoral <i>in vivo</i> .	Disponibilidade apenas do impreciso estadiamento clínico.
Diminuição do tamanho do tumor e complicações na cirurgia linfonodal axilar.	.
Menor radicalidade da terapia loco-regional.	
Possível cirurgia conservadora da mama.	
Bom modelo biológico para avaliar os efeitos do tratamento sistêmico no tumor.	

Tabela 2 - Avaliação da estratégia multidisciplinar com tratamento sistêmico de indução.

Fonte: Harris et al. (2004).

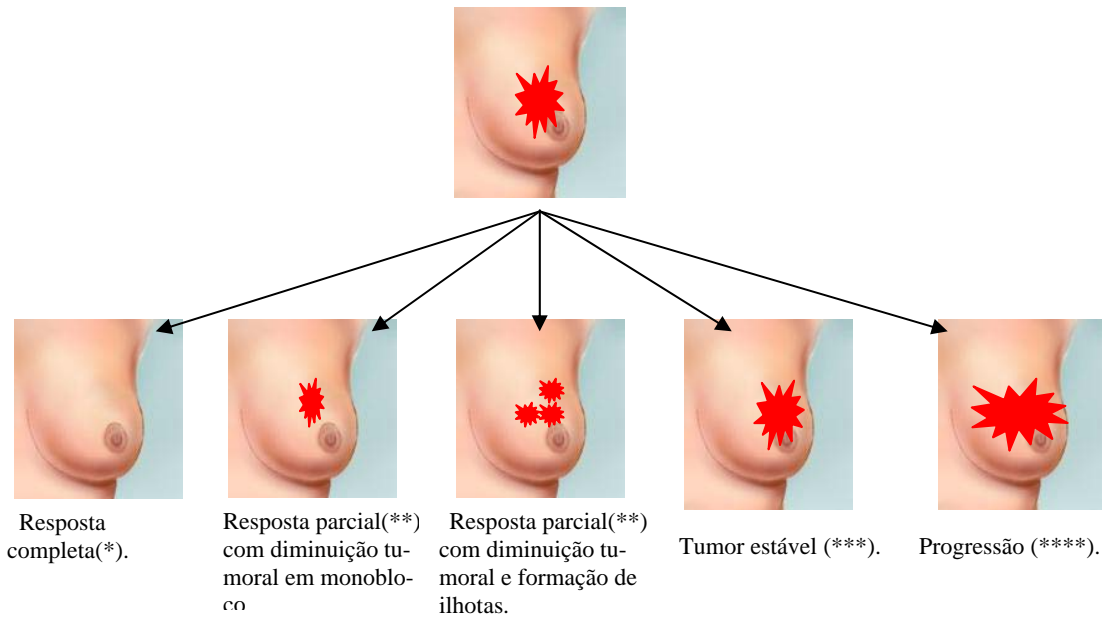


Figura 1: Padrões de Resposta ao Tratamento Neoadjuvante – Conforme os critérios RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors), resposta completa (\*) significa que não há mais evidência de neoplasia; a resposta parcial (\*\*) requer uma diminuição de pelo menos 30% do valor do maior diâmetro do tumor original; a progressão (\*\*\*\*) é configurada quando este valor aumenta pelo menos 20%; a doença estável (\*\*\*) é uma situação intermediária entre a resposta parcial e a progressão.

A introdução dos taxanos (Von Minckwitz et al 1999) aumentou significativamente a atividade antitumoral, (Rastogi et al 2008, Gonzalez-Ângulo et al 2008) tanto quando houve resposta ou não às antraciclinas. Estudo de Bear et al demonstrou maior RPC e maior intervalo livre de doença em pacientes com resposta parcial em relação aos que usaram AC seguido de docetaxel pré-operatório.(Bear et al 2006) O Consenso do NCCN afirma que o tratamento sistêmico pré-operatório é equivalente ao adjuvante (Fisher et al 1998, Rastogi et

al 2008) e que não há indicação de QT pós-operatória se o número de ciclos padrão tenha sido completado antes da cirurgia (NCCN, 2009).

Vários agentes quimioterápicos comprovadamente eficazes na doença metastática também são apropriados para o tratamento neoadjuvante. (Thomas et al 2007, Perez et al 2007, Villman et al 2007, Di Leo et al 2008, Steinberg 2008, Lechleider et al 2008, Hamm et al 2008, Gomez et al 2008, Cameron et al 2008) Entre eles, pode-se incluir os antracíclicos, taxanos, ciclofosfamida, metotrexate, fluoracil, gemcitabine, ixabepilone e capecitabine. (NCCN, 2009) Mulheres HER2-positivos devem receber um regime neoadjuvante que incorpore trastuzumab (Sánchez-Muñoz et al 2008, Horiguchi et al 2009). A sua adição é associada a um aumento na RPC, segundo Buzdar et al, de 26% para 65,2% ( $p=0,016$ ). (Buzdar et al 2005).

O uso de terapias sistêmicas pré-operatórias tem sido amplamente indicadas no manejo do câncer de mama localmente avançado (Kaufmann et al 2006). As principais vantagens estimadas da QT neoadjuvante em relação às alternativas terapêuticas consistem em uma melhora das condições cirúrgicas, uma melhor avaliação do potencial de resposta tumoral à terapia sistêmica e uma maior sobrevida.

### **2.5.1 Impacto na melhora das condições cirúrgicas**

O potencial do tratamento sistêmico neoadjuvante na melhora das condições cirúrgicas, especialmente expressas através de uma maior taxa de cirurgias conservadoras, já foi extensamente demonstrada em várias séries de

casos de pacientes com doença localmente avançada (Wolff e Davidson 2000). Esse benefício se deu sem prejuízo no controle locorregional da doença (Chen et al 2004). Na comparação com um esquema padrão baseado em antraciclinas, a intensificação da QT neoadjuvante com a adição sequencial de taxanos foi, inclusive, associada com uma menor taxa de recidiva local (Mamounas 1997). A demonstração do impacto positivo no aumento das chances de cirurgia conservadora fez com que a QT neoadjuvante com antracíclicos fosse incorporada como terapêutica padrão para pacientes com uma relação volumétrica desfavorável entre o tumor primário e o restante do tecido mamário (geralmente em tumores T3 e T4)(NCCN 2009, INCA 2006, NCI 2009). A figura 2 mostra caso de paciente pós-quimioterapia neoadjuvante com diminuição tumoral e submetida à cirurgia conservadora de mama e simetrização.



Figura 2 A– mamas grandes e ptóticas com mamas acessórias axilares e nódulo maligno medindo 6 cm na junção dos quadrantes inferiores da mama esquerda.

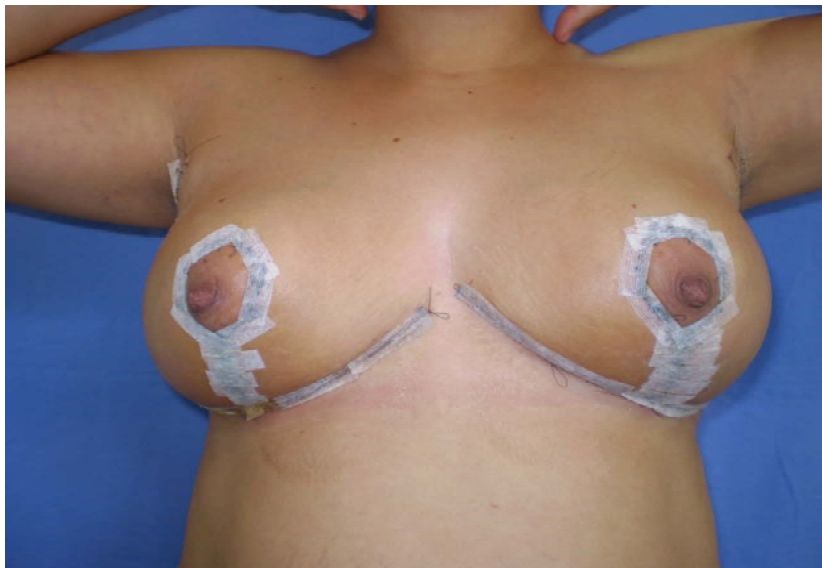


Figura 2 B – Pós-operatório de cirurgia conservadora mama esquerda com técnica de mamoplastia redutora com pedículo areolado superior e simetrização mama direita.



Figura 2 C - cicatriz axilar transversa após esvaziamento axilar com exereses concomitantes de mama acessória axilar.

## 2.5.2 Avaliação do potencial de resposta tumoral

A QT neoadjuvante trouxe, adicionalmente, a possibilidade de se observar a resposta dinâmica do tumor primário ao tratamento e estabelecer relações prognósticas. Assim, uma resposta volumétrica precoce ao tratamento foi implicada com um desfecho a longo prazo mais favorável (Von Minckwitz et al 2005). Também, a detecção de uma RPC em pacientes submetidos à QT neoadjuvante foi fortemente associada com uma menor mortalidade em neoplasia de mama na análise de diversas coortes (Kuerer et al 1999, Wollf e Davidson 2000, Wolmark et al 2001, Bear et al 2006).

Baseados nesses dados, postula-se que a RPC exprimiria um alto potencial da intervenção em erradicar os depósitos micrometastáticos e consensos internacionais propõem o seu uso como um desfecho substituto para sobrevida geral na população submetida a QT primária (Kaufmann et al 2006). A figura 3 mostra exame ecográfico documentando resposta tumoral parcial baseado no critério RECIST ao tratamento quimioterápico neoadjuvante, com redução significativa do tamanho tumoral.



Figura 3 A -Tumor palpável de mama esquerda.



Figura 3 B - resposta parcial após 3º ciclo quimioterápico.

### **2.5.3 Benefícios na sobrevida**

Uma abordagem que privilegiasse o controle sistêmico de forma primária tem sido proposta como uma das alternativas para se expandir a taxa de sobrevida dos pacientes com câncer de mama. Entretanto, comparações em ensaios randomizados frente a esquemas padrão de adjuvância falharam em demonstrar superioridade da QT neoadjuvante na sobrevida geral ou livre de doença (Scholl et al 1994, Wolmark et al 2001, van der Hage et al 2001, Bear et al 2006). Nesses estudos, a segurança da intervenção foi confirmada, com baixos índices de progressão durante a quimioterapia e com toxicidade sobreponível ao tratamento pós-operatório. Uma vez que, em análises de subgrupo retrospectivas, ganhos na taxa de RPC com a QT neoadjuvante foram detectados, é possível que novas estratégias de seleção de pacientes ou o aumento de poder de futuros ensaios possam detectar ganhos em sobrevida (Kaufmann et al 2006).



## **3. OBJETIVOS**

### **3.1 PRIMÁRIO**

Comparar a expressão imuno-histoquímica dos receptores de prolactina, HER2-neu, estrogênio e progesterona na neoplasia de mama pré e pós-quimioterapia neoadjuvante.

### **3.2 SECUNDÁRIO**

Avaliar se a expressão dos marcadores imuno-histoquímicos estudados tem alguma correlação com a resposta tumoral à quimioterapia neoadjuvante.

## 4. REFERÊNCIAS

Allred DC, Harvey JM, Bernardo M et al. Prognostic and Predictive Factors in Breast Cancer by Immunohistochemical Analysis. *Modern Pathology*11:155-68, 1998.

Allred, D. C., Clark, G. M., Molina, R., Tandon, A. K., Schnitt, S. J., Gilchrist, K. W., Osborne, C. K., Tormey, D. C., and McGuire, W. L., Overexpression of HER-2/neu and its relationship with other prognostic factors change during the progression of in situ to invasive breast cancer. *Hum.Pathol.*,23(9):974-979, 1992

American Cancer Society, *Cancer Facts and Figures 2006*. 2006

Baehner, F. L., *Estrogen Receptor Positive Breast Cancer: Traditional Prognostics Meet A New Breast Cancer Taxonomy and 21st Century Prognostic and Predictive Assays*. American College of Pathologist Publications, 2006

Battelli, N., Massacesi, C., Braconi, C., Pilone, A., Manzione, L., Dinota, A., Cobelli, S., Scanni, A., Sturba, F., Giacomini, G., Morale, D., Giorgi, F., Tummarello, D., and Cascinu, S., Paclitaxel and epirubicin followed by cyclophosphamide, methotrexate and 5-fluorouracil for patients with stage IIIC breast cancer with ten or more involved axillary lymph nodes. *Am.J.Clin.Oncol.*,29(4):380-384, 2006.

Bear, H. D. et al. Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide for operable breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J. Clin. Oncol.*, New York, v. 24, n. 13, p. 2019-2027, 2006.

Bear, H. D., Anderson, S., Smith, R. E., Geyer, C. E., Jr., Mamounas, E. P., Fisher, B., Brown, A. M., Robidoux, A., Margoese, R., Kahlenberg, M. S., Paik, S., Soran, A., Wickerham, D. L., and Wolmark, N., Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide for operable breast cancer:National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J.Clin.Oncol.*,24(13):2019-2027, 2006.

Beckmann, M. W., Niederacher, D., Massenkeil, G., Tutschek, B., Beckmann, A., Schenko, G., Schnurch, H. G., and Bender, H. G., Expression analyses of epidermal growth factor receptor and HER-2/neu: no advantage of prediction of recurrence or survival in breast cancer patients. *Oncology.*,53(6):441-447, 1996.

Bezwod, W. R., Esser, J. D., Dansey, R., Kessel, I., and Lange, M., The value of estrogen and progesterone receptor determinations in advanced breast cancer. Estrogen receptor level but not progesterone receptor level correlates with response to tamoxifen. *Cancer*,68(4):867-872, 1991.

Bhatavdekar, J. M., Patel, D. D., Shah, N. G., Vora, H. H., Suthar, T. P., Ghosh, N., Chikhlikar, P. R., and Trivedi, T. I., Prolactin as a local growth promoter in patients with breast cancer: GCRI experience. *Eur.J.Surg.Oncol.*,26(6):540-547, 2000.

Bhatavdekar, J. M., Patel, D. D., Shah, N. G., Vora, H. H., Suthar, T. P., Chikhlikar, P. R., Ghosh, N., and Trivedi, T. I., Prognostic significance of immunohistochemically localized biomarkers in stage II and stage III breast cancer: a multivariate analysis. *Ann.Surg.Oncol.*,7(4):305-311, 2000.

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* Sep;11(3):359-77, 1957.

Bowen RL, Stebbing J, Jones LJ. A review of the ethnic differences in breast cancer. *Pharmacogenomics* Sep;7(6):935-42, 2006.

bu-Khalaf, M. M., Windsor, S., Ebisu, K., Salikooti, S., Ananthanarayanan, G., Chung, G. G., DiGiovanna, M. P., Haffty, B. G., Abrams, M., Farber, L. R., Hsu, A. D., Reiss, M., Zelterman, D., and Burtness, B. A., Five-year update of an expanded

phase II study of dose-dense and -intense doxorubicin, paclitaxel and cyclophosphamide (ATC) in high-risk breast cancer. *Oncology*,69(5):372-383, 2005.

Bundred NJ. Prognostic and predictive factors in breast cancer. *Cancer Treat. Rev.* 27(3):137-42, 2001.

Burge, C. N., Chang, H. R., Apple, S. K. Do the histologic features and results of breast cancer biomarker studies differ between core biopsy and surgical excision specimens? *Breast*,15(2):167-72,2006.

Burstein, H. J., The distinctive nature of HER2-positive breast cancers. *N.Engl.J.Med.*,353(16):1652-1654, 2005.

Buzdar, A. U. et al. Significantly higher pathologic complete remission rate after neoadjuvant therapy with trastuzumab, paclitaxel, and epirubicin chemotherapy: results of a randomized trial in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, New York, v. 23, n. 16, p. 3676-3685, 2005.

Cameron, D. et al. A phase III randomized comparison of lapatinib plus capecitabine versus capecitabine alone in women with advanced breast cancer that has progressed on trastuzumab: updated efficacy and biomarker analyses. *Breast Cancer Res. Treat.*, Boston, v. 112, n. 3, p. 533-543, 2008.

Chen, A. M., Meric-Bernstam, F., Hunt, K. K., Thames, H. D., Oswald, M. J., Outlaw, E. D., Strom, E. A., McNeese, M. D., Kuerer, H. M., Ross, M. I., Singletary, S. E., Ames, F. C., Feig, B. W., Sahin, A. A., Perkins, G. H., Schechter, N. R., Hortobagyi, G. N., and Buchholz, T. A., Breast conservation after neoadjuvant chemotherapy: the MD Anderson cancer center experience. *J.Clin.Oncol.*,22(12):2303-2312, 2004.

Clevenger, C. V., Furth, P. A., Hankinson, S. E., and Schuler, L. A., The role of prolactin in mammary carcinoma. *Endocr.Rev.*,24(1):1-27, 2003.

Cocconi, G. et al. Neoadjuvant chemotherapy or chemotherapy and endocrine therapy in locally advanced breast carcinoma: a prospective, randomized study. *Am. J. Clin. Oncol.*, New York, v. 13, n. 3, p. 226-232, 1990.

Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins pathologic basis of disease. Basic Pathology. Philadelphia: W.B. Saunders; 1999.

Cutler SJ, Black MM, Mork T et al. Further observations on prognostic factors in cancer of the female breast. *Cancer* 24:653, 1969.

De Lena, M. et al. Combined chemotherapy-radiotherapy approach in locally advanced (T3b-T4) breast cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, Berlin, v. 1, n. 1, p. 53-59, 1978.

De Potter, C. R. and Schelfhout, A. M., The neu-protein and breast cancer. *Virchows Arch.*,426(2):107-115, 1995.

de, Castillo B., Cawthorn, S., Moppett, J., Shere, M., and Norman, M., Expression of prolactin receptor mRNA in oestrogen receptor positive breast cancers pre- and post-tamoxifen therapy. *Eur.J.Surg.Oncol.*,30(5):515-519, 2004.

Di Leo, A. et al. Phase III, double-blind, randomized study comparing lapatinib plus paclitaxel with placebo plus paclitaxel as first-line treatment for metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, New York, v. 26, n. 34, p. 5544-5552, 2008.

Dumitrescu RG, Cotarla I. Understanding breast cancer risk – do we stand in 2005? *J Cell Mol Med.* Jan-Mar; 9(1):208-2, 2005.

Elliott, R. L., Head, J. F., and McCoy, J. L., Comparison of estrogen and progesterone receptor status to lymphocyte immunity against tumor antigens in breast cancer patients. *Breast Cancer Res.Treat.*,30(3):299-304, 1994.

Elston CW, Ellis IO. *The Breast.* Edinburgh, UK: Churchill Livingstone, p. 365, 1998.

Elston, C. W. and Ellis, I. O., *The Breast.* 1998.

Fisher, B. et al. Effect of preoperative chemotherapy on local-regional disease in women with operable breast cancer: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J. Clin. Oncol.*, New York, v. 15, n. 7, p. 2483-2493, 1997.

Fisher, B. et al. Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, New York, v. 16, n. 8, p. 2672-2685, 1998.

Fukutomi T, Adashi-Tanaka S. Prognostic and Predictive Factors in the Adjuvant Treatment of Breast Cancer. *Breast Cancer* 9(2):95-9, 2002.

G. Farante, S. Zurrada, G. Viale, F. Sauer, A. Goldhirsch e U. Veronesi. *New TNM: A breast cancer classification from European Institute of Oncology, Milan, Italy* 2009.

Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, et al. Neoadjuvant trastuzumab in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer: primary efficacy analysis of the NOAH trial, abstract 31, SABCS 2008.

Goffin, V., Bernichtein, S., Touraine, P., and Kelly, P. A., Development and potential clinical uses of human prolactin receptor antagonists. *Endocr.Rev.*,26(3):400-422, 2005.



Goldhirsch, A., Glick, J. H., Gelber, R. D., Coates, A. S., Thurlimann, B., and Senn, H. J., Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Ann.Oncol.*,16(10):1569-1583, 2005.

Goldhirsch, A., Ingle, J. N., Gelber, R. D., Coates, A. S., Thürlimann, B., Senn, H. J.; Panel members. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann. Oncol.*,20(8):1319-29, 2009.

Gomez, H. L. et al. Efficacy and safety of lapatinib as first-line therapy for ErbB2-amplified locally advanced or metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, New York, v. 26, n. 18, p. 2999-3005, 2008.

Gonzalez-Angulo, A. M. et al. Using response to primary chemotherapy to select postoperative therapy: long-term results from a prospective phase II trial in locally advanced primary breast cancer. *Clin. Breast Cancer.*, Texas, v. 8, n. 6, p. 516-521, 2008.

Gutzman, J. H., Miller, K. K., and Schuler, L. A., Endogenous human prolactin and not exogenous human prolactin induces estrogen receptor alpha and prolactin receptor expression and increases estrogen responsiveness in breast cancer cells. *J.Steroid Biochem.Mol.Biol.*,88(1):69-77, 2004.

Hamm, J. T. et al. Gemcitabine/epirubicin/paclitaxel as neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer: a phase II trial of the NSABP Foundation Research Group. *Clin. Breast Cancer, Texas*, v. 8, n. 3, p. 257-263, 2008.

Harris, J. R, Lippman, M. E, Morrow, M., and Osborne, C. K, *Diseases of Breast*. 2004.

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. Dec*;72(12):1189-94; discussion 1194-5, 2006.

Horiguchi, J. et al. Neoadjuvant weekly paclitaxel with and without trastuzumab in locally advanced or metastatic breast cancer. *Anticancer Res., Athens*, v. 29, n. 2, p. 517-524, 2009.

Horita, K., Yamaguchi, A., Hirose, K., Ishida, M., Noriki, S., Imamura, Y., and Fukuda, M., Prognostic factors affecting disease-free survival rate following surgical resection of primary breast cancer. *Eur.J.Histochem.*,45(1):73-84, 2001.

Hortobagyi, G. N. et al. Management of stage III primary breast cancer with primary chemotherapy, surgery, and radiation therapy. *Cancer, New York*, v. 62, n. 12, p. 2507-2516, 1988.

Hunt, K. K. et al. Locally advanced noninflammatory breast cancer. *Surg. Clin. North Am.*, Philadelphia, v. 76, n. 2, p. 393-410, 1996.

Instituto Nacional de Câncer - INCA, Controle do Câncer de Mama - Documento de Consenso. 2006.

Instituto Nacional de Câncer - INCA, Estimativa 2008 - Incidência de Câncer no Brasil. 2008.

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. nov* 1;66(21):10292-301, 2006.

Jacquillat, C. et al. Results of a conservative treatment combining induction (neoadjuvant) and consolidation chemotherapy, hormonotherapy, and external and interstitial irradiation in 98 patients with locally advanced breast cancer (IIIA-IIIB). *Cancer*, New York, v. 61, n. 10, p. 1977-1982, 1988.

Janssen, T., Darro, F., Petein, M., Raviv, G., Pasteels, J. L., Kiss, R., and Schulman, C. C., In vitro characterization of prolactin-induced effects on proliferation in the neoplastic LNCaP, DU145, and PC3 models of the human prostate. *Cancer.*,77(1):144-149, 1996.

Kaufmann, M., Hortobagyi, G. N., Goldhirsch, A., Scholl, S., Makris, A., Valagussa, P., Blohmer, J. U., Eiermann, W., Jackesz, R., Jonat, W., Lebeau, A., Loibl, S., Miller, W., Seeber, S., Semiglazov, V., Smith, R., Souchon, R., Stearns, V., Untch, M., and von, Minckwitz G., Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: an update. *J.Clin.Oncol.*,24(12):1940-1949, 2006.

Keshgegian, A. A., ErbB-2 oncoprotein overexpression in breast carcinoma: inverse correlation with biochemically- and immunohistochemically-determined hormone receptors. *Breast Cancer Res.Treat.*,35(2):201-210, 1995.

Koda, M., Lenczewski, A., Sulkowska, M., Kanczuga-Koda, L., Wincewicz, A., Tomaszewski, J., Sulkowski, S., The effect of chemotherapy on status of estrogen receptors in primary tumors and lymph node metastases of human ductal breast cancer. *Oncol Rep.*,17(2):385-91, 2007.

Kuerer, H. M., Newman, L. A., Smith, T. L., Ames, F. C., Hunt, K. K., Dhingra, K., Theriault, R. L., Singh, G., Binkley, S. M., Sneige, N., Buchholz, T. A., Ross, M. I., McNeese, M. D., Buzdar, A. U., Hortobagyi, G. N., and Singletary, S. E., Clinical course of breast cancer patients with complete pathologic primary tumor and axillary lymph node response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy. *J.Clin.Oncol.*,17(2):460-469, 1999.

Kuukasjarvi, T., Kononen, J., Helin, H., Holli, K., and Isola, J., Loss of estrogen receptor in recurrent breast cancer is associated with poor response to endocrine therapy. *J.Clin.Oncol.*,14(9):2584-2589, 1996.

Lechleider, R. J. et al. Ixabepilone in combination with capecitabine and as monotherapy for treatment of advanced breast cancer refractory to previous chemotherapies. *Clin. Cancer Res.*, New Jersey, v. 14, n. 14, p. 4378-4384, 2008.

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.* Jan-Feb;12(1):58-62, 2006.

Mamounas, E. P., NSABP Protocol B-27. Preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide followed by preoperative or postoperative docetaxel. *Oncology (Williston.Park)*.,11(6 Suppl 6):37-40, 1997.

Mansour, E. G., Ravdin, P. M., and Dressler, L., Prognostic factors in early breast carcinoma. *Cancer*.,74(1 Suppl):381-400, 1994.

Mathew J. et al. Neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast cancer: a review of the literature and future directions. *Eur. J. Surg. Oncol.*, London, v. 35, n. 2, p. 113-122, 2009.

Mathew, J. et al. Neoadjuvant chemotherapy in locally advanced primary breast cancers: the Nottingham experience. *Eur. J. Surg. Oncol.*, London, v. 33, n. 8, p. 972-976, 2007.

Mauri, F. A., Maisonneuve, P., Caffo, O., Veronese, S., Aldovini, D., Ferrero, S., Cozzaglio, F., Dalla, Palma P., Galligioni, E., and Barbareschi, M., Prognostic value of estrogen receptor status can be improved by combined evaluation of p53, Bcl2 and PgR expression: an immunohistochemical study on breast carcinoma with long-term follow-up. *Int.J.Oncol.*,15(6):1137-1147, 1999.

McClelland, R. A., Berger, U., Miller, L. S., Powles, T. J., Jensen, E. V., and Coombes, R. C., Immunocytochemical assay for estrogen receptor: relationship to outcome of therapy in patients with advanced breast cancer. *Cancer Res.*,46(8 Suppl):4241s-4243s, 1986.

McPherson K, Steel CM, Dixon JM. ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics, *BMJ*. 321:624-628, 2000.

Miglietta, L., Vanella, P., Canobbio, L., Parodi, M. A., Guglielmini, P., Boccardo, F., Clinical and pathological response to primary chemotherapy in patients with locally advanced breast cancer grouped according to hormonal receptors, Her2 status, grading and Ki-67 proliferation index. *Anticancer Res.*,29(5):1621-5, 2009.

National Cancer Institute, PDQ Cancer Information Summaries: Adult Treatment - Breast Cancer. 2009.

National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical practice guidelines in oncology. Washington, DC, 2009.

Nemoto, T., Vana, J., Bedwani, R. N., Baker, H. W., McGregor, F. H., and Murphy, G. P., Management and survival of female breast cancer: results of a national survey by the American College of Surgeons. *Cancer*,45(12):2917-2924, 1980.

Nishimura, R., Osako, T., Okumura, Y., Hayashi, M., Arima, N., Clinical significance of Ki-67 in neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer as a predictor for chemosensitivity and for prognosis. *Breast Cancer*. Sep 4, 2009.

Parkin DM, Fernandez LM. Use of statistics to assess the global burden of breast cancer. *Breast J*. Jan-Feb; 12(1):70-80, 2006.

Pedrini JL, Pedrini M, Savaris RF, et al. Reassessing tumor markers in local recurrences of breast cancer: a new insight. *Med Sci Monit*. 10:BR462–BR467, 2004.

Penault-Llorca, F., Abrial, C., Raoelfils, I., Chollet, P., Cayre, A., Mouret-Reynier, M. A., Thivat, E., Mishellany, F., Gimbergues, P., Durando, X., Changes and predictive and prognostic value of the mitotic index, Ki-67, cyclin D1, and cyclo-

oxygenase-2 in 710 operable breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Oncologist*,13(12):1235-45,2008.

Perez, E. A. et al. Efficacy and safety of ixabepilone (BMS-247550) in a phase II study of patients with advanced breast cancer resistant to an anthracycline, a taxane, and capecitabine. *J. Clin. Oncol.*, New York, v. 25, n. 23, p. 3407-3414, 2007.

Piccart-Gebhart, M. J., Procter, M., Leyland-Jones, B., Goldhirsch, A., Untch, M., Smith, I., Gianni, L., Baselga, J., Bell, R., Jackisch, C., Cameron, D., Dowsett, M., Barrios, C. H., Steger, G., Huang, C. S., Andersson, M., Inbar, M., Lichinitser, M., Lang, I., Nitz, U., Iwata, H., Thomssen, C., Lohrisch, C., Suter, T. M., Ruschoff, J., Suto, T., Greatorex, V., Ward, C., Straehle, C., McFadden, E., Dolci, M. S., and Gelber, R. D., Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N.Engl.J.Med.*,353(16):1659-1672, 2005.

Porter, D. A., Krop, I. E., Nasser, S., Sgroi, D., Kaelin, C. M., Marks, J. R., Riggins, G., and Polyak, K., A SAGE (serial analysis of gene expression) view of breast tumor progression. *Cancer Res.*,61(15):5697-5702, 2001.

Pusztai, L., Preoperative systemic chemotherapy and pathologic assessment of response. : *Pathol. Oncol. Res.*,14(2):169-71, 2008.



Rastogi, P. et al. Preoperative chemotherapy: updates of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocols B-18 and B-27. *J. Clin. Oncol.*, New York, v. 26, n. 5, p. 778-185, 2008.

Rosen PP, *Breast Pathology*. 1997.

Saez, R. A., McGuire, W. L., and Clark, G. M., Prognostic factors in breast cancer. *Semin.Surg.Oncol.*,5(2):102-110, 1989.

Sahoo, S., Lester, S. C., Pathology of breast carcinomas after neoadjuvant chemotherapy: an overview with recommendations on specimen processing and reporting. : *Arch. Pathol. Lab. Med.*,133(4):633-42, 2009.

Sánchez-Muñoz, A. et al. Tumour molecular subtyping according to hormone receptors and HER2 status defines different pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in patients with locally advanced breast cancer. *Clin. Transl. Oncol.*, Barcelona, v. 10, n. 10, p. 646-653, 2008.

Sawaki, M., Ito, Y., Akiyama, F., Tokudome, N., Horii, R., Mizunuma, N., Takahashi, S., Horikoshi, N., Imai, T., Nakao, A., Kasumi, F., Sakamoto, G., and Hatake, K., High prevalence of HER-2/neu and p53 overexpression in inflammatory breast cancer. *Breast Cancer.*,13(2):172-178, 2006.

Scholl, S. M., Fourquet, A., Asselain, B., Pierga, J. Y., Vilcoq, J. R., Durand, J. C., Dorval, T., Palangie, T., Jouve, M., Beuzeboc, P., and ., Neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy in premenopausal patients with tumours considered too large for breast conserving surgery: preliminary results of a randomised trial: S6. *Eur.J.Cancer.*,30A(5):645-652, 1994.

Shien, T., Akashi-Tanaka, S., Miyakawa, K., Hojo, T., Shimizu, C., Seki, K., Ando, M., Kohno, T., Taira, N., Doihara, H., Katsumata, N., Fujiwara, Y., Kinoshita, T., Clinicopathological features of tumors as predictors of the efficacy of primary neoadjuvant chemotherapy for operable breast cancer. *World. J. Surg.*,33(1):44-51, 2009.

Singletary, S. E., Allred, C., Ashley, P., Bassett, L. W., Berry, D., Bland, K. I., Borgen, P. I., Clark, G., Edge, S. B., Hayes, D. F., Hughes, L. L., Hutter, R. V., Morrow, M., Page, D. L., Recht, A., Theriault, R. L., Thor, A., Weaver, D. L., Wieand, H. S., and Greene, F. L., Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer. *J.Clin.Oncol.*,20(17):3628-3636, 2002.

Slamon, D. J., Clark, G. M., Wong, S. G., Levin, W. J., Ullrich, A., and McGuire, W. L., Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science.*,235(4785):177-182, 1987.

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.

Steinberg, M. Ixabepilone: a novel microtubule inhibitor for the treatment of locally advanced or metastatic breast cancer. *Clin. Ter., Roma*, v. 30, n. 9, p. 1590-1617, 2008.

Stierer, M., Rosen, H., Weber, R., Hanak, H., Spona, J., and Tuchler, H., Immunohistochemical and biochemical measurement of estrogen and progesterone receptors in primary breast cancer. Correlation of histopathology and prognostic factors. *Ann.Surg.*,218(1):13-21, 1993.

Swain, S. M. et al. Neoadjuvant chemotherapy in the combined modality approach of locally advanced nonmetastatic breast cancer. *Cancer Res.*, Baltimore, v. 47, n. 14, p. 3889-3894, 1987.

Tetu, B. and Brisson, J., Prognostic significance of HER-2/neu oncoprotein expression in node-positive breast cancer. The influence of the pattern of immunostaining and adjuvant therapy. *Cancer.*,73(9):2359-2365, 1994.

Thomas, E. S. et al. Ixabepilone plus capecitabine for metastatic breast cancer progressing after anthracycline and taxane treatment. *J. Clin. Oncol.*, New York, v. 25, n. 33, p. 5210-5217, 2007.

Tworoger, S. S. and Hankinson, S. E., Prolactin and breast cancer risk. *Cancer Lett.*,2006.

Untch M, Rezai M, Loibl S, et al. Neoadjuvant treatment of HER2 overexpressing primary breast cancer with trastuzumab given concomitantly to epirubicin cyclophosphamide followed by docetaxel±capecitabine. First analysis of efficacy and safety of the GBG/AGO multicenter intergroup study, *European Journal of Cancer Supplements Volume 6, n° 7, April, page 7, 2008.*

Valero, V. et al. Primary chemotherapy in the treatment of breast cancer: the University of Texas M. D. Anderson Cancer Center experience. *Clin. Breast Cancer, Texas, v. 3 (Supl. 2), p. S63-S68, 2002.*

van der Hage, J. A., van, de, V, Julien, J. P., Tubiana-Hulin, M., Vandervelden, C., and Duchateau, L., Preoperative chemotherapy in primary operable breast cancer: results from the European Organization for Research and Treatment of Cancer trial 10902. *J.Clin.Oncol.*,19(22):4224-4237, 2001.

Viale, G., Histopathology of primary breast cancer 2003. Department of Pathology, European Institute of Oncology. *The Breast*,12:391-6,2003.

Villman, K. et al. A phase II study of epirubicin, cisplatin and capecitabine as neoadjuvant chemotherapy in locally advanced or inflammatory breast cancer. *Eur. J. Cancer, Oxford*, v. 43, n. 7, p. 1153-1160, 2007.

Vogel, C. L., Cobleigh, M. A., Tripathy, D., Gutheil, J. C., Harris, L. N., Fehrenbacher, L., Slamon, D. J., Murphy, M., Novotny, W. F., Burchmore, M., Shak, S., Stewart, S. J., and Press, M., Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J.Clin.Oncol.*,20(3):719-726, 2002.

Von Minckwitz, G. et al. Maximized reduction of primary breast tumor size using preoperative chemotherapy with doxorubicin and docetaxel. *J. Clin. Oncol.*, New York, v. 17, n. 7, p. 1999-2005, 1999.

von, Minckwitz G., Raab, G., Caputo, A., Schutte, M., Hilfrich, J., Blohmer, J. U., Gerber, B., Costa, S. D., Merkle, E., Eidtmann, H., Lampe, D., Jackisch, C., du Bois A., and Kaufmann, M., Doxorubicin with cyclophosphamide followed by docetaxel every 21 days compared with doxorubicin and docetaxel every 14 days as preoperative treatment in operable breast cancer: the GEPARDUO study of the German Breast Group. *J.Clin.Oncol.*,23(12):2676-2685, 2005.

Vonderhaar, B. K., Prolactin involvement in breast cancer. *Endocr.Relat Cancer.*,6(3):389-404, 1999.

Wolff, A. C. and Davidson, N. E., Primary systemic therapy in operable breast cancer. *J.Clin.Oncol.*,18(7):1558-1569, 2000.

Wolmark, N., Wang, J., Mamounas, E., Bryant, J., and Fisher, B., Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J.Natl.Cancer Inst.Monogr.*,30):96-102, 2001.

Yankaskas BC. Epidemiology of breast cancer in young women. *Breast Dis.*;23:3-8, 2005-2006.

## **5. ARTIGO CIENTÍFICO EM PORTUGUÊS**

## **INFLUÊNCIA DA QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE SOBRE A EXPRESSÃO DOS MARCADORES IMUNO-HISTOQUÍMICOS NO CARCINOMA PRIMÁRIO DE MAMA.**

*José Luiz Pedrini\**

*Cláudio Galleano Zettler\*\**

*Mario Casales Schorr\*\*\**

*Ricardo Francalacci Savaris\*\*\*\**

\* Médico Mastologista, Doutorando em Patologia pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

\*\* Prof. Dr. Cláudio Galleano Zettler da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – UFCSPA, Orientador deste trabalho.

\*\*\* Médico Mastologista, Mestre em Patologia pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

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

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre ( UFCSPA ).

Rua Sarmiento 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.**

José Luiz Pedrini

Mario Casales Schorr

Ricardo Francalacci Savaris

Cláudio Galleano Zettler

Eduardo Cambuzzi

Endereço para correspondência:

José Luiz Pedrini, Rua Tomás Gonzaga 430 casa 16, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. CEP 91340-480

[josepedrini@terra.com.br](mailto:josepedrini@terra.com.br)



## INFLUÊNCIA DA QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE SOBRE A EXPRESSÃO DOS MARCADORES IMUNO-HISTOQUÍMICOS NO CARCINOMA PRIMÁRIO DE MAMA.

---

### RESUMO

**Introdução:** Os marcadores tumorais são importantes na diferenciação dos carcinomas de mama. A imuno-histoquímica é um importante método no diagnóstico e tratamento do câncer de mama. O objetivo desse estudo é comparar a expressão imuno-histoquímica do receptor de prolactina (RPrI), receptor do fator de crescimento HER2-neu, receptor de estrogênio (RE) e receptor de progesterona (RP) na neoplasia de mama pré e pós-quimioterapia neoadjuvante e avaliar se esses marcadores são associados à resposta tumoral à quimioterapia (QT) neoadjuvante

**Métodos:** A expressão imuno-histoquímica desses receptores foi analisada em 90 casos de CDI pré e pós QT neoadjuvante. O teste de McNemar e o índice Kappa foram usados para fazer a análise estatística.

**Resultados:** Comparados os tumores com positividade de HER2-neu pré-QT (39/90 casos ou 43,3%) e pós-QT (20/90 casos ou 22,2%) e RPrI pré-QT (43/90 casos ou 47,8%) e pós-QT (25/90 casos ou 27,8%) houve diminuição estatisticamente significativa da expressão tumoral desses marcadores pós-QT. Não houve diferença significativa na expressão dos RE e RP pré e pós-QT, o índice Kappa mostrou moderada concordância para o RE e RP (0,51) e baixa para

o HER2-neu (0,49) e RPrl (0,37) na variação da expressão de positividade e negatividade desses marcadores.

**Conclusão:** A expressão de RPrl e HER2-neu mostraram diferença significativa na expressão pré e pós-QT, o que não aconteceu com os RE e RP e a concordância desses marcadores pré e pós-QT foi baixa, o que sugere que deve-se realizar a análise imuno-histoquímica após a QT. Não foi demonstrado valor preditivo de resposta à QT para nenhum dos marcadores estudados, indicando que a resposta tumoral independe da expressão pré ou da mudança da expressão dos marcadores tumorais pós QT.

**Palavras-chave:** Carcinoma de mama, HER2-neu, receptor de estrogênio, receptor de progesterona, receptor de prolactina quimioterapia neoadjuvante.

## INTRODUÇÃO

O câncer de mama tem grande impacto na saúde da mulher. É o segundo tipo de câncer mais frequente no mundo e o primeiro entre as mulheres (INCA 2008). A incidência da neoplasia cresce continuamente com o aumento da faixa etária e sua curva de aumento apresenta a maior aceleração nas 5ª e 6ª décadas de vida (Porter 2001). Apesar dos esforços para detecção precoce e os avanços terapêuticos, a sobrevivência mundial em 5 anos situa-se em 61%. (INCA 2008)

A pesquisa de fatores preditivos e prognósticos para otimizar o tratamento continua sendo um dos grandes desafios na pesquisa do câncer de mama. O comprometimento axilar continua sendo o fator prognóstico de maior impacto na neoplasia de mama (Nemoto 1980, Saez 1989, Veronesi 2003) e é o parâmetro de risco para indicar a intensificação de estratégias de adjuvância sistêmica. (bukhalaf 2005, Batelli 2006). Outros fatores clínicos (idade da paciente), patológicos (tipo histológico, tamanho, grau tumoral) e biológicos (estado dos receptores de estrogênio, progesterona e HER2-neu) são considerados medidas valiosas do risco de progressão da doença e influenciam a escolha das intervenções sistêmicas. (Elston/Ellis 1998, Baehner 2006, Goldhirsch 2009).

Os receptores de estrógeno (RE) e progesterona (RP) pertencem a uma família de receptores nucleares de hormônios e atuam como fatores de transcrição quando ativados por seus respectivos ligantes (Harris 2004). A positividade dos carcinomas de mama para RE varia entre 60-81% e, para os RP, entre 44-61% (Stierer 1993, Kuukasjarvi 1996). A maioria dos autores mostra uma associação

positiva entre a presença dos RH e um prognóstico mais favorável (Mansour 1994, Mauri 1999) O potencial de responsividade hormonal, expresso na quantificação de RE e RP, é um dos principais definidores para decisão terapêutica em carcinoma de mama (Goldhirsch 2005).

O c-erb-B2 pertence à família dos receptores do fator de crescimento tirosina-cinase tipo I. (Rajkumar 1994) 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. (Slamon 1987, Allred 1998, Baselga 2001, Del Maestro 2005, Piccart-Gebhart 2005, Hitt 2006, Francis 2006)

A prolactina é um hormônio de produção primária hipofisária com papel essencial no crescimento, diferenciação e desenvolvimento normais da glândula mamária (de Castillo 2004, Tworoger 2006). Experimentos *in vitro* têm implicado a prolactina na tumorigênese de vários tecidos, em especial a mama (Janssen 1996). Mecanismos como promoção de proliferação celular, inibição da apoptose, aumento da motilidade celular e angiogênese tem sido sugeridos (Goffin 2005, Tworoger 2006) e seus efeitos estimulatórios sobre o ciclo celular parecem ser potencializados pelo estradiol (Gutzman 2004). A estimulação autócrina/parácrina por células normais e neoplásicas é apontada como um dos mecanismos provavelmente envolvidos (Vonderhaar 1999, Tworoger 2006). A expressão imuno-histoquímica de prolactina no citoplasma das células mamárias chega a 80% dos casos e é preditora independente de pior sobrevida (Bhatavdekar 2000, Bhatavdekar 2000).

O tratamento sistêmico primário têm sido amplamente indicado no manejo do câncer de mama (Kaufmann 2006) e sua segurança confirmada, com baixos índices de progressão durante a quimioterapia e toxicidade semelhante ao tratamento adjuvante (Kaufmann 2006). Essa abordagem melhora as condições cirúrgicas, mesmo em pacientes com doença localmente avançada, inclusive com aumento das taxas de cirurgias conservadoras. (Wolff 2000) O aumento dos índices de cirurgia conservadora fez com que a quimioterapia neoadjuvante com antracíclicos fosse incorporada como alternativa terapêutica para pacientes com uma relação volumétrica desfavorável entre o tumor e mama (NCCN 2009, INCA doc consenso 2006, NCI 2009).

O tratamento sistêmico pré-operatório também possibilita a avaliação da resposta tumoral *in vivo* e é associada a um desfecho favorável a longo prazo (Von Minckwitz 2005), principalmente em casos com resposta patológica completa (Kuerer 1999, Wolmark 2001, Bear 2006). Ensaio randomizados comparando esquemas padrão na adjuvância com o tratamento neoadjuvante não demonstraram superioridade da terapia primária em relação à sobrevida geral e livre de doença (Wolmark 2001, van der Hage 2001, Bear 2006)

Muitas vezes a biópsia por fragmento é a única amostra usada para avaliar os marcadores prognósticos e preditivos previamente ao tratamento sistêmico neoadjuvante. (Burge 2006) Como o câncer de mama tem uma grande variedade de achados histológicos e imuno-histoquímicos, a concordância e as possíveis mudanças entre a biópsia pré-QT e a peça cirúrgica pós-QT constituem um desafio ao patologista e à decisão clínica do mastologista. (Renault-Llorca 2008, Pusztai 2008, Sahoo 2009).

Além disso, identificar fatores preditivos de resposta ao tratamento sistêmico primário pode ter considerável potencial clínico e o futuro do tratamento neoadjuvante passa pela sua individualização através de terapias alvo. (Miglietta 2009). O papel de marcadores histológicos e imuno-histoquímicos, vêm sendo extensamente estudados com este objetivo. (Renault-Llorca 2008, Nishimura 2009, Shien 2009)

O objetivo desse trabalho é comparar a expressão imuno-histoquímica dos receptores de prolactina, HER2-neu, estrogênio e progesterona na neoplasia de mama pré e pós-quimioterapia neoadjuvante e avaliar se os marcadores imuno-histoquímicos estudados são associados à resposta tumoral à quimioterapia neoadjuvante.

## **MÉTODOS**

### *Pacientes*

Foram selecionados 90 casos de carcinoma invasor de mama, confirmados histologicamente após revisão das lâminas pelos investigadores, sendo retirados os blocos de parafina do arquivo do Serviço de Patologia do Hospital Nossa Senhora da Conceição e do Hospital Santa Rita de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Foram incluídas mulheres portadoras de carcinoma invasor de mama, com indicação de cirurgia, submetidas à quimioterapia primária baseada em antraciclina (pelo menos 3 ciclos completos) e tratamento cirúrgico posterior.

Excluíram-se homens, gestantes, carcinoma inflamatório, doença metastática, resposta patológica completa e as submetidas à hormonioterapia neoadjuvante.

### *Imuno-histoquímica*

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 imuno-histoquímica foram incubadas a 60°C por 20 minutos para remoção da parafina e, então, imersas por 10 minutos em xilol, seguidas por 5 imersões sequenciais 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: receptor de prolactina (DAKO policlonal, Glostrup, Dinamarca) 1:1000, receptor de estrogênio (Novocastra, Newcastle–United Kingdom) 1:200, receptor de progesterona (Novocastra, Newcastle–United Kingdom) 1:100 e c-erb-B2 (DAKO policlonal, Glostrup, Dinamarca) 1:500. 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 imuno-histoquímica 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. Quatro investigadores diferentes (MCS, EC, JLP, CGZ) 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), com 1% ou mais dos núcleos corados em 10 campos de grande aumento (CGA),(Ferrero-Pous 2001, Pinto 2005) c-erb-B2 (anticorpo policlonal) com escore 3 de positividade, com forte e completa coloração amarronzada da membrana celular em mais de 30% das células neoplásicas e escore 2, com coloração fraca/moderada completa em mais de 10% das células. As com coloração da membrana celular escore 1, de coloração fraca em parte da membrana em mais de 10% das células foram consideradas negativas.(Jacobs 1999) O receptor de prolactina (anticorpo policlonal) com escore 3 de positividade, com coloração do citoplasma mais de 50% das células coradas (Bhatavdekar 2000) e com escore 2, entre 10 a 50 % das células com coloração amarronzada do citoplasma é considerado positivo (Bhatavdekar 2000a, Bhatavdekar 2000b, Gill 2001). As com escore 1, com coloração em menos de 10% das células são consideradas negativas,. Como controle positivo foi utilizado



tecido pituitário humano (Bhatavdekar 2000a) e como controle negativo um caso sabidamente negativo.

## **COMITÊ DE ÉTICA E ANÁLISE ESTATÍSTICA**

O projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. O tamanho da amostra foi calculado em 88 pacientes, baseado na estimativa de uma magnitude positiva de impacto da expressão imuno-histoquímica sobre o desfecho principal em 35%, com margem de erro de 10%. Considerou-se um erro alfa de 5% e um poder de 80%.

Foi realizado um banco de dados no programa Excel e posteriormente exportado para o programa SPSS versão 15.0 para a análise estatística dos dados. © 2007 SPSS Inc. All rights reserved. SPSS Inc. Headquarters, 233 S. Wacker Drive, 11th floor Chicago, Illinois 60606. Para descrever as variáveis categóricas foram utilizadas as frequências absolutas e frequências relativas percentuais e os seus respectivos intervalos de confiança de 95%. Para avaliar a associação entre a expressão dos marcadores pré e pós QT foi utilizado o teste de Mc Nemar e o coeficiente Kappa para avaliar a concordância entre os valores pré e pós QT.

Para avaliar a associação entre resposta à QT e os marcadores, e grau histológico com estes foi utilizado o teste de Qui-quadrado.

Para descrever variáveis quantitativas utilizamos a mediana e o intervalo interquartil, e para comparar estas entre as diferentes respostas o teste de Mann-

Whitney. Foi considerado um nível de significância de 5%.

## RESULTADOS

Os achados clínicos, laboratoriais e patológicos estão resumidos na tabela 1. A comparação entre os marcadores imuno-histoquímicos pré e pós QT revelou uma concordância baixa e moderada ( $k=0,37-0,51$ ) e sem diferença significativa na expressão dos receptores hormonais no câncer de mama. Houve redução significativa do tamanho tumoral pré e pós-QT de 6,15 – 3,97cm.

A comparação entre os receptores HER2-neu e prolactina demonstrou uma diferença significativa com diminuição da expressão desses marcadores após QT neoadjuvante, como é mostrado na tabela 2.

A avaliação entre a associação de resposta à QT com a expressão dos marcadores imuno-histoquímicos na biópsia pré-QT mostrou maior resposta patológica à QT nas pacientes RE, RP e HER2-neu positivos e RPrI negativos, mas nenhum desses resultados encontrou diferenças significativas (dados não mostrados).

Tabela 1.- Características da amostra.

Variáveis	n=90
Variação de idade	30-89
Média de idade	57,02±11,6
tipo de cirurgia	
conservadora	26(28,9)
Radical	64(71,1)
estadiamento cirúrgico	
tamanho médio pré-qt	6,15±2,8
tamanho médio pós-qt	3,97±2,96
Resposta tumoral	59(65,6)
Re positivo (pré/pós)	48(53,3)/50(55,6)
RP positivo (pré/pós)	42(46,7)/40(44,4)
HER2-neu positivo (pré/pós)	39(43,3)/20(22,2)
Prl positivo (pré/pós)	43(47,8)/25(27,8)
tipo histológico	
CDI	81(90)
CLI	6(6,7)
CDI tipo especial	3(3,3)
grau histológico	
3	40(44,4)
2	40(44,4)
1	10(11,1)

Variáveis categoricas descritas pelo n(%) e quantitativas pela media ±desvio padrão

Tabela 2 – Mudança na expressão imuno-histoquímica do HER2-neu, receptores de estrogênio, progesterona e prolactina nos tumores pré e pós-quimioterapia neoadjuvante.

Receptores	Negativaram	Positivaram	P*
<b>HER2</b>	21(23,3) IC95% (15,5-32,9)	2(2,2) IC95% (0,4-7,1)	<0,001
<b>RE</b>	10(11,1) IC95% (5,8-18,9)	12(13,3) IC95% (7,4-21,6)	0,832
<b>RP</b>	12(13,3) IC95% (7,4-21,6)	10(11,1) IC95% (5,8-18,9)	0,832
<b>Prl</b>	23(25,6) IC95% (17,4-35,3)	5(5,6) IC95% (2,1-11,9)	0,001

Os dados são apresentados com n(%) e Intervalo de confiança de 95% para o percentual (IC95%)

\* Teste de Mc Nemar

Nas figuras 1 a 8 são mostradas lâminas e a imunoexpressividade dos marcadores estudados em casos pré e pós-quimioterapia neoadjuvante.

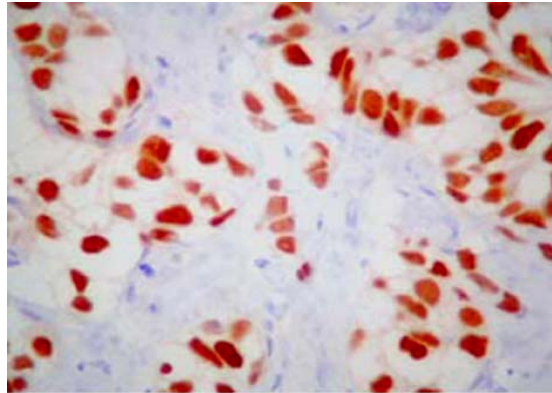


Figura 1 – Imunoexpressão nuclear do Receptor de Estrogênio positivo em >95% das células do carcinoma de mama pós-quimioterapia. ( X 100)



Figura 2 – Imunoexpressão nuclear do Receptor de Estrogênio positivo em 90% das células em carcinoma de mama pré-quimioterapia (X100).

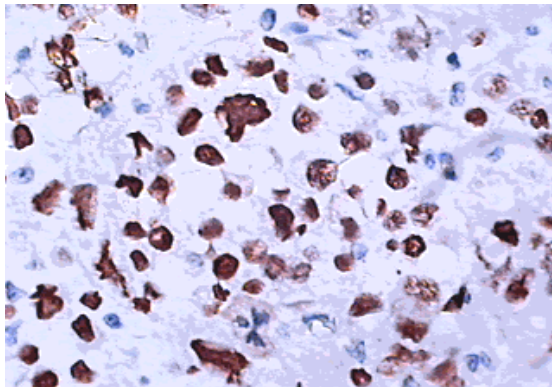


Figura 3 – Imunoexpressão do Receptor de Progesterona com 80% de positividade em carcinoma de mama pós-quimioterapia (X 100).

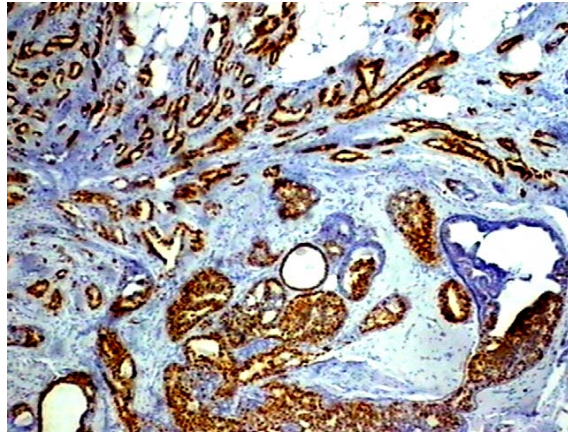


Figura 4 – Imunoexpressão do Receptor de Progesterona com >90% de positividade nuclear em carcinoma de mama pré-quimioterapia – tanto no componente invasor quanto no componente intraductal (X40).

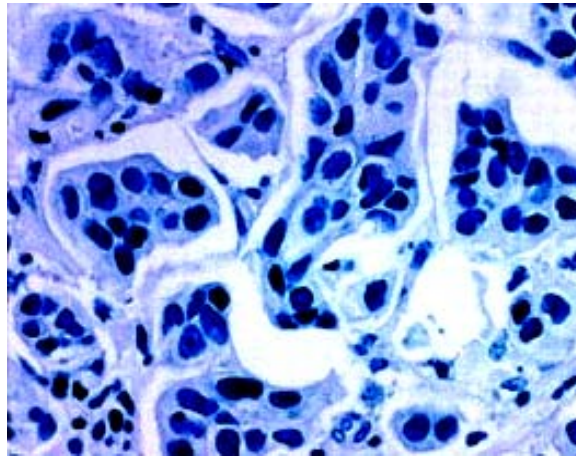


Figura 5 – Ausência de imunoexpressão para receptor de prolactina em carcinoma de mama após quimioterapia (X100).

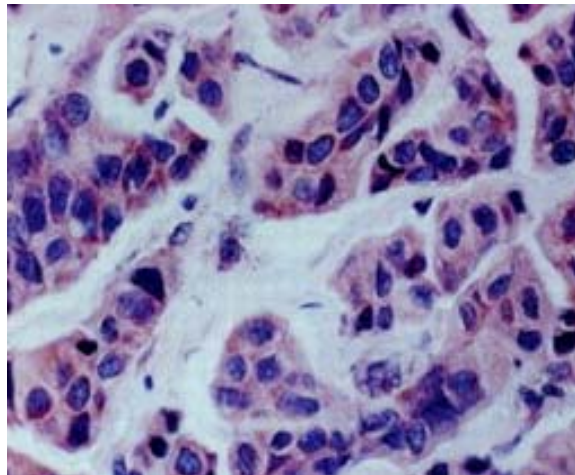


Figura 6 – Imunoexpressão com coloração citoplasmática para Receptor de Prolactina em carcinoma de mama pré-quimioterapia (X100).

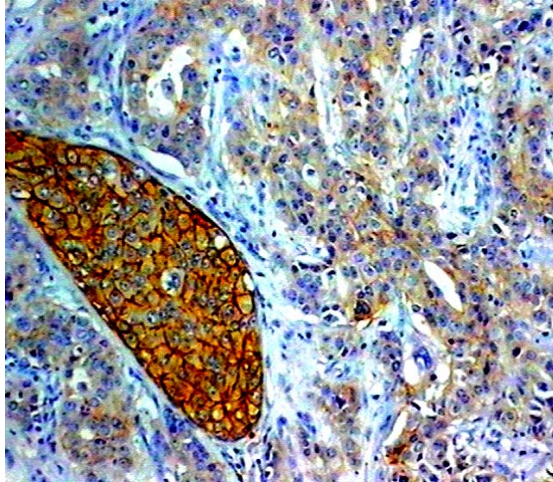


Figura 7 - Coloração negativa da membrana celular para o HER2-neu no componente invasor de carcinoma de mama e positiva escore 3 no componente intraductal, pré-quimioterapia (X40).

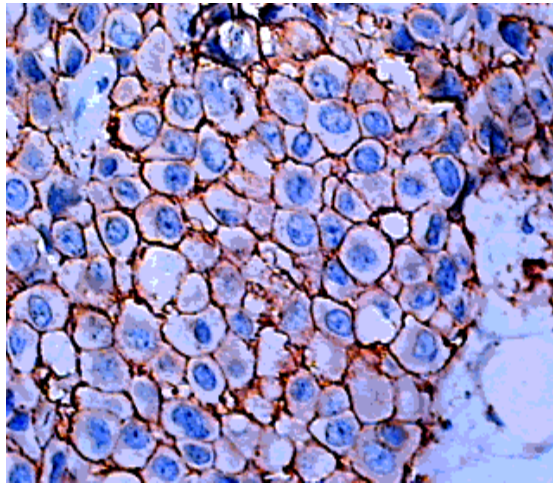


Figura 8 – Imunoexpressão de membrana do Receptor de HER2-neu 3 cruces de positividade em carcinoma de mama pós-quimioterapia (X100).

## DISCUSSÃO

O câncer de mama apresenta uma grande variedade nos seus aspectos patológicos e no seu comportamento clínico. Os marcadores tumorais vem sendo utilizados como uma forma de classificação do tipo tumoral, com o objetivo de individualizar o tratamento (Harris 2007).

O efeito da quimioterapia nos marcadores histológicos, imuno-histoquímicos e de expressão genética tumoral também têm sido amplamente avaliada.(Goldhirsch 2009, Burcombi 2008) Muitos marcadores estão sendo estudados na tentativa de identificar fatores preditivos de resposta para o tratamento sistêmico neoadjuvante e, com isso, estabelecer grupos que se beneficiem com o tratamento e, principalmente, identificar em que a resposta ao tratamento quimioterápico seja pobre.(Chow 2006, Liedtke 2008)

Esse estudo comparou a expressão imuno-histoquímica de marcadores tumorais (*HER-2/neu* e os receptores de estrogênio, progesterona e prolactina) da biópsia de fragmento dos casos de carcinoma infiltrante de mama antes da quimioterapia neoadjuvante com a peça anátomo-patológica da cirurgia definitiva e investigou a possível associação da expressão desses marcadores imunoistoquímicos na biópsia pré-QT à resposta patológica tumoral, de forma análoga às pesquisas de Adams et al. (Adams 2008 )

A comparação da expressão dos marcadores imuno-histoquímicos do *HER-2/neu*, RE, RP e prolactina demonstrou que há uma baixa e moderada concordância, verificado pelos índices de Kappa. Apesar das semelhanças entre



os receptores hormonais examinados antes e após o tratamento sistêmico, a baixa associação pelo índice Kappa sugere que os tumores sofram alterações qualitativas significativas de sua população celular clonal. Em relação aos receptores HER2-neu e de prolactina, ocorreu diminuição significativa na expressão desses marcadores após a quimioterapia neoadjuvante, demonstrando mudança do perfil imuno-histoquímico tumoral induzido pela quimioterapia.

Há grande controvérsia e resultados discrepantes em relação às mudanças na expressão imuno-histoquímica pré e pós-QT. Estudos prévios tem encontrado diferenças em variados marcadores, achados que estão de acordo com os dados encontrados no presente estudo.(Lee 2003, Zhao 2004, Wang 2005, Adams 2008)

De forma contrária, os dados obtidos por Von Minckwitz et al e outros autores afirmam não haver alteração significativa dos marcadores histológicos e no perfil imuno-histoquímico após tratamento sistêmico primário.(Koda 2007, Kasami 2008) Além disso, o diferente perfil imuno-histoquímico em relação ao tumor primário também foi demonstrado em estudos que avaliaram tanto a recidiva local (Pedrini 2004), quanto as metástases axilares (Koda 2007)

Nossos resultados sugerem que a reavaliação dos marcadores imuno-histoquímicos após QT neoadjuvante é necessária, devido às significativas mudanças na sua expressão e possível mudança na estratégia do tratamento sistêmico adjuvante. Essa também é a recomendação de Lee et al (2003) e Wang et al (2005).

No presente estudo a expressão dos marcadores imuno-histoquímicos não foi associada a diferenças na resposta tumoral ao tratamento neoadjuvante, o que sugere que os marcadores estudados não são preditivos de resposta tumoral,

entretanto o tamanho da amostra pode ser um fator limitante desses resultados. Esses dados concordam com os achados de Von Minckwitz et al (2008) que afirma não ser possível prever resposta patológica completa com os fatores clínicos e biológicos rotineiramente determinados.

## **CONCLUSÃO**

A expressão de prolactina e HER-2 neu mostraram diferença significativa na expressão pré e pós-QT, o que não aconteceu com os receptores de estrogênio e progesterona. Observamos que a concordância desses marcadores pré e pós-QT foi baixa, o que sugere que deve-se fazer a análise imuno-histoquímica após a QT.

Não foi demonstrado valor preditivo de resposta à QT para nenhum dos marcadores estudados. Neste estudo, a resposta tumoral à QT independe da expressão pré ou da mudança da expressão dos marcadores tumorais pós QT.

Os receptores hormonais e o HER2-neu têm valor preditivo para tratamento do câncer de mama. Como a concordância da expressão imuno-histoquímica pré e pós- quimioterapia foi moderada, este trabalho sugere que mais estudos sejam feitos para definir qual o melhor momento, se pré ou pós-QT, de avaliação de marcadores imuno-histoquímicos, genômicos e proteômicos.

## REFERÊNCIAS

Instituto Nacional de Câncer - INCA, Estimativa 2008 - Incidência de Câncer no Brasil. 2008

Porter, D. A., Krop, I. E., Nasser, S., Sgroi, D., Kaelin, C. M., Marks, J. R., Riggins, G., and Polyak, K., A SAGE (serial analysis of gene expression) view of breast tumor progression. *Cancer Res.*,61(15):5697-5702, 2001

Saez, R. A., McGuire, W. L., and Clark, G. M., Prognostic factors in breast cancer. *Semin.Surg.Oncol.*,5(2):102-110, 1989

Nemoto, T., Vana, J., Bedwani, R. N., Baker, H. W., McGregor, F. H., and Murphy, G. P., Management and survival of female breast cancer: results of a national survey by the American College of Surgeons. *Cancer.*,45(12):2917-2924, 1980

Veronesi, U., Paganelli, G., Viale, G., Luini, A., Zurrada, S., Galimberti, V., Intra, M., Veronesi, P., Robertson, C., Maisonneuve, P., Renne, G., De, Cicco C., De, Lucia F., and Gennari, R., A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N.Engl.J.Med.*,349(6):546-553, 2003

bu-Khalaf, M. M., Windsor, S., Ebisu, K., Salikooti, S., Ananthanarayanan, G., Chung, G. G., DiGiovanna, M. P., Haffty, B. G., Abrams, M., Farber, L. R., Hsu, A. D., Reiss, M.,

Zelterman, D., and Burtness, B. A., Five-year update of an expanded phase II study of dose-dense and -intense doxorubicin, paclitaxel and cyclophosphamide (ATC) in high-risk breast cancer. *Oncology*,69(5):372-383, 2005

Battelli, N., Massacesi, C., Braconi, C., Pilone, A., Manzione, L., Dinota, A., Cobelli, S., Scanni, A., Sturba, F., Giacomini, G., Morale, D., Giorgi, F., Tummarello, D., and Cascinu, S., Paclitaxel and epirubicin followed by cyclophosphamide, methotrexate and 5-fluorouracil for patients with stage IIIC breast cancer with ten or more involved axillary lymph nodes. *Am.J.Clin.Oncol.*,29(4):380-384, 2006

Goldhirsch, A., Ingle, J. N., Gelber, R. D., Coates, A. S., Thürlimann, B., Senn, H. J.; Panel members. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann. Oncol.*,20(8):1319-29, 2009

Baehner, F. L., Estrogen Receptor Positive Breast Cancer: Traditional Prognostics Meet A New Breast Cancer Taxonomy and 21st Century Prognostic and Predictive Assays. American College of Pathologist Publications.,2006

Elston, C. W. and Ellis, I. O., *The Breast*. 1998

Harris, J. R, Lippman, M. E, Morrow, M., and Osborne, C. K, *Diseases of Breast*. 2004

Kuukasjarvi, T., Kononen, J., Helin, H., Holli, K., and Isola, J., Loss of estrogen receptor in recurrent breast cancer is associated with poor response to endocrine therapy. *J.Clin.Oncol.*,14(9):2584-2589, 1996

Stierer, M., Rosen, H., Weber, R., Hanak, H., Spona, J., and Tuchler, H., Immunohistochemical and biochemical measurement of estrogen and progesterone receptors in primary breast cancer. Correlation of histopathology and prognostic factors. *Ann.Surg.*,218(1):13-21, 1993

Rosen PP, *Breast Pathology*. 1997

Mansour, E. G., Ravdin, P. M., and Dressler, L., Prognostic factors in early breast carcinoma. *Cancer.*,74(1 Suppl):381-400, 1994

Mauri, F. A., Maisonneuve, P., Caffo, O., Veronese, S., Aldovini, D., Ferrero, S., Cozzaglio, F., Dalla, Palma P., Galligioni, E., and Barbareschi, M., Prognostic value of estrogen receptor status can be improved by combined evaluation of p53, Bcl2 and PgR expression: an immunohistochemical study on breast carcinoma with long-term follow-up. *Int.J.Oncol.*,15(6):1137-1147, 1999

Goldhirsch, A., Glick, J. H., Gelber, R. D., Coates, A. S., Thurlimann, B., and Senn, H. J., Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Ann.Oncol.*,16(10):1569-1583, 2005

Rajkumar T, Gullick WJ. The type 1 growth factor receptors in human breast cancer. *Breast cancer res treat.* 1994; 29:1.

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.

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.

Hitt E. Anthracycline-based therapy improves outcomes in patients with early stage HER2-positive breast cancer, presented at SABCS. San Antonio, 2006 Dec 18.

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.

Baselga J. Clinical trials of trastuzumab. *Eur. J. Cancer.* 2001 Jan; 37(1):18-24.

Slamon, D. J., Clark, G. M., Wong, S. G., Levin, W. J., Ullrich, A., and McGuire, W. L., Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science.*,235(4785):177-182, 1987

Piccart-Gebhart, M. J., Procter, M., Leyland-Jones, B., Goldhirsch, A., Untch, M., Smith, I., Gianni, L., Baselga, J., Bell, R., Jackisch, C., Cameron, D., Dowsett, M., Barrios, C. H., Steger, G., Huang, C. S., Andersson, M., Inbar, M., Lichinitser, M., Lang, I., Nitz, U., Iwata, H., Thomssen, C., Lohrisch, C., Suter, T. M., Ruschoff, J., Suto, T., Grotzer, V., Ward, C., Straehle, C., McFadden, E., Dolci, M. S., and Gelber, R. D., Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N.Engl.J.Med.*,353(16):1659-1672, 2005

de, Castillo B., Cawthorn, S., Moppett, J., Shere, M., and Norman, M., Expression of prolactin receptor mRNA in oestrogen receptor positive breast cancers pre- and post-tamoxifen therapy. *Eur.J.Surg.Oncol.*,30(5):515-519, 2004

TwoRoger, S. S. and Hankinson, S. E., Prolactin and breast cancer risk. *Cancer Lett.*,2006

Janssen, T., Darro, F., Petein, M., Raviv, G., Pasteels, J. L., Kiss, R., and Schulman, C. C., In vitro characterization of prolactin-induced effects on proliferation in the neoplastic LNCaP, DU145, and PC3 models of the human prostate. *Cancer.*,77(1):144-149, 1996

Goffin, V., Bernichtein, S., Touraine, P., and Kelly, P. A., Development and potential clinical uses of human prolactin receptor antagonists. *Endocr.Rev.*,26(3):400-422, 2005

Gutzman, J. H., Miller, K. K., and Schuler, L. A., Endogenous human prolactin and not exogenous human prolactin induces estrogen receptor alpha and prolactin receptor

expression and increases estrogen responsiveness in breast cancer cells. *J.Steroid Biochem.Mol.Biol.*,88(1):69-77, 2004

Vonderhaar, B. K., Prolactin involvement in breast cancer. *Endocr.Relat Cancer.*,6(3):389-404, 1999

Bhatavdekar, J. M., Patel, D. D., Shah, N. G., Vora, H. H., Suthar, T. P., Ghosh, N., Chikhlikar, P. R., and Trivedi, T. I., Prolactin as a local growth promoter in patients with breast cancer: GCRI experience. *Eur.J.Surg.Oncol.*,26(6):540-547, 2000

Bhatavdekar, J. M., Patel, D. D., Shah, N. G., Vora, H. H., Suthar, T. P., Chikhlikar, P. R., Ghosh, N., and Trivedi, T. I., Prognostic significance of immunohistochemically localized biomarkers in stage II and stage III breast cancer: a multivariate analysis. *Ann.Surg.Oncol.*,7(4):305-311, 2000

Kaufmann, M., Hortobagyi, G. N., Goldhirsch, A., Scholl, S., Makris, A., Valagussa, P., Blohmer, J. U., Eiermann, W., Jackesz, R., Jonat, W., Lebeau, A., Loibl, S., Miller, W., Seeber, S., Semiglazov, V., Smith, R., Souchon, R., Stearns, V., Untch, M., and von, Minckwitz G., Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: an update. *J.Clin.Oncol.*,24(12):1940-1949, 2006

National Comprehensive Cancer Network, The NCCN Breast Cancer - Clinical Practice Guidelines in Oncology. Version V2.2009(2009)



Instituto Nacional de Câncer - INCA, Controle do Câncer de Mama - Documento de Consenso. 2009.

National Cancer Institute, PDQ Cancer Information Summaries: Adult Treatment - Breast Cancer. 2009.

von, Minckwitz G., Raab, G., Caputo, A., Schutte, M., Hilfrich, J., Blohmer, J. U., Gerber, B., Costa, S. D., Merkle, E., Eidtmann, H., Lampe, D., Jackisch, C., du, Bois A., and Kaufmann, M., Doxorubicin with cyclophosphamide followed by docetaxel every 21 days compared with doxorubicin and docetaxel every 14 days as preoperative treatment in operable breast cancer: the GEPARDUO study of the German Breast Group. *J.Clin.Oncol.*,23(12):2676-2685, 2005

Wolmark, N., Wang, J., Mamounas, E., Bryant, J., and Fisher, B., Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J.Natl.Cancer Inst.Monogr.*,30):96-102, 2001

Kuerer, H. M., Newman, L. A., Smith, T. L., Ames, F. C., Hunt, K. K., Dhingra, K., Theriault, R. L., Singh, G., Binkley, S. M., Sneige, N., Buchholz, T. A., Ross, M. I., McNeese, M. D., Buzdar, A. U., Hortobagyi, G. N., and Singletary, S. E., Clinical course of breast cancer patients with complete pathologic primary tumor and axillary lymph node

response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy. *J.Clin.Oncol.*,17(2):460-469, 1999

Bear, H. D., Anderson, S., Smith, R. E., Geyer, C. E., Jr., Mamounas, E. P., Fisher, B., Brown, A. M., Robidoux, A., Margolese, R., Kahlenberg, M. S., Paik, S., Soran, A., Wickerham, D. L., and Wolmark, N., Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide for operable breast cancer:National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J.Clin.Oncol.*,24(13):2019-2027, 2006

van der Hage, J. A., van, de, V, Julien, J. P., Tubiana-Hulin, M., Vandervelden, C., and Duchateau, L., Preoperative chemotherapy in primary operable breast cancer: results from the European Organization for Research and Treatment of Cancer trial 10902. *J.Clin.Oncol.*,19(22):4224-4237, 2001

Burge, C. N., Chang, H. R., Apple, S. K. Do the histologic features and results of breast cancer biomarker studies differ between core biopsy and surgical excision specimens? *Breast*,15(2):167-72,2006

Sahoo, S., Lester, S. C., Pathology of breast carcinomas after neoadjuvant chemotherapy: an overview with recommendations on specimen processing and reporting. : *Arch. Pathol. Lab. Med.*,133(4):633-42, 2009

Renault-Llorca, F., Abrial, C., Raoelfils, I., Chollet, P., Cayre, A., Mouret-Reynier, M. A., Thivat, E., Mishellany, F., Gimbergues, P., Durando, X., Changes and predictive and prognostic value of the mitotic index, Ki-67, cyclin D1, and cyclo-oxygenase-2 in 710 operable breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Oncologist*,13(12):1235-45,2008

Pusztai, L., Preoperative systemic chemotherapy and pathologic assessment of response. : *Pathol. Oncol. Res.*,14(2):169-71, 2008

Miglietta, L., Vanella, P., Canobbio, L., Parodi, M. A., Guglielmini, P., Boccardo, F., Clinical and pathological response to primary chemotherapy in patients with locally advanced breast cancer grouped according to hormonal receptors, Her2 status, grading and Ki-67 proliferation index. *Anticancer Res.*,29(5):1621-5, 2009

Nishimura, R., Osako, T., Okumura, Y., Hayashi, M., Arima, N., Clinical significance of Ki-67 in neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer as a predictor for chemosensitivity and for prognosis. *Breast Cancer*. 2009 Sep 4

Shien, T., Akashi-Tanaka, S., Miyakawa, K., Hojo, T., Shimizu, C., Seki, K., Ando, M., Kohno, T., Taira, N., Doihara, H., Katsumata, N., Fujiwara, Y., Kinoshita, T., Clinicopathological features of tumors as predictors of the efficacy of primary neoadjuvant chemotherapy for operable breast cancer. *World. J. Surg.*,33(1):44-51,2009

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.

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.

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.

Gill, S., Peston, D., Vonderhaar, B. K., and Shousha, S., Expression of prolactin receptors in normal, benign, and malignant breast tissue: an immunohistological study. *J.Clin.Pathol.*,54(12):956-960, 2001

Harris L, Fritsche H, Mennel R, et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25:5287–5312.

Goldhirsch, A., Ingle, J. N., Gelber, R.D., Coates, A.S., Thürlimann, B., Senn, H.J., Panel members, Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann. Oncol.*,20(8):1319-29, 2009

Burcombe, R. J., Makris, A., Richman, P. I., Daley, F. M., Noble, S., Pittam, M., Wright, D., Allen, S. A., Dove, J., and Wilson, G. D., Evaluation of ER, PgR, HER-2 and Ki-67 as predictors of response to neoadjuvant anthracycline chemotherapy for operable breast cancer. *Br.J.Cancer.*,92(1):147-155, 2005

Chow, L. W., Yiu, C.C., Yip, A.Y., Loo, W. T., The future perspectives of breast cancer therapy. *Biomed. Pharmacother.*,60(6):259-62, 2006

Liedtke, C., Mazouni, C., Hess, K. R., André, F., Tordai, A., Mejia, J. A., Symmans, W. F., Gonzalez-Angulo, A. M., Hennesy, B., Green, M., Cristofanilli, M., Hortobagyi, G. N., Pusztai, L., Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 10;26(8):1275-81, 2008

Adams, A. L., Eltoum, I., Krontiras, H., Wang, W., Chhieng, D. C., The effect of neoadjuvant chemotherapy on histologic grade, hormone receptor status, and HER2/neu status in breast carcinoma. *Breast J.*,14(2):141-6, 2008

Zhao, J., Wu, Y. L., Wang, Y. D., Zhao, G. R., Wang, J., Effects of neoadjuvant chemotherapy on estrogen and progesterone receptors and HER-2 in breast cancer. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 24(12):1437-9, 2004

Lee, S. H., Chung, M.A., Quddus, M. R., Steinhoff, M.M., Cady, B., The effect of neoadjuvant chemotherapy on estrogen and progesterone receptor expression and hormone receptor status in breast cancer. *Am. J. Surg.*, 186(4):348-50,2003

Wang, S., Zhang, J. Q., Qiao, X. M., Yang, D. Q., Tong, F. Z., Liu, H. J., The effect of neoadjuvant chemotherapy on estrogen and progesterone receptor expression in breast carcinoma. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*, 43(15):1011-3, 2005

von Minckwitz, G., Sinn, H. P., Raab, G., Loibl, S., Blohmer, J. U., Eidtmann, H., Hilfrich, J., Merkle, E., Jackisch, C., Costa, S. D., Caputo, A., Kaufmann, M.; German Breast Group, Clinical response after two cycles compared to HER2, Ki-67, p53, and bcl-2 in independently predicting a pathological complete response after preoperative chemotherapy in patients with operable carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res.*,10(2):R30, 2008

Koda, M., Lenczewski, A., Sulkowska, M., Kanczuga-Koda, L., Wincewicz, A., Tomaszewski, J., Sulkowski, S., The effect of chemotherapy on status of estrogen receptors in primary tumors and lymph node metastases of human ductal breast cancer. *Oncol Rep.*,17(2):385-91, 2007

Kasami, M., Uematsu, T., Honda, M., Yabuzaki, T., Sanuki, J., Uchida, Y., Sugimura, H., Comparison of estrogen receptor, progesterone receptor and Her-2 status in breast cancer pre- and post-neoadjuvant chemotherapy. *Breast*, 17(5):523-7, 2008

Pedrini JL, Pedrini M, Savaris RF, et al. Reassessing tumor markers in local recurrences of breast cancer: a new insight. *Med Sci Monit.*2004;10:BR462–BR467

## **6. ARTIGO EM INGLÊS**



**The influence of neoadjuvant chemotherapy on the expression of immunohistochemical markers in primary breast cancer**

*José Luiz Pedrini\**

*Cláudio Galleano Zettler\*\**

*Mario Casales Schorr\*\*\**

*Ricardo Francalacci Savaris\*\*\*\**

\* M.D, Post-Graduation Program, UFCSPA, Porto Alegre, Brazil.

\*\* Ph.D. Assistant Professor in Pathology, UFCSPA, Porto Alegre, Brazil.

\*\*\* M.D. Post-Graduation Program, UFCSPA, Porto Alegre, Brazil.

\*\*\*\* M.D. Assistant Professor of Gyneacology UFRGS, Porto Alegre, Brazil.

## **Abstract**

**Introduction:** Tumor markers are important in the differentiation of breast cancer types. Immunohistochemistry is an important method in the diagnosis and treatment of breast cancer. The aim of the present study is to compare the immunohistochemical expression of prolactin receptor (PrIR), HER2-neu growth factor receptor, estrogen (ER) and progesterone receptor (PR) in breast neoplasm, prior to and after neoadjuvant chemotherapy and to verify whether these markers are associated with tumor response in neoadjuvant chemotherapy.

**Methods:** Immunohistochemical expressions for these receptors were analyzed in 90 cases of CDI, prior to and after neoadjuvant chemotherapy. McNemar's test and the Kappa index were used to perform the statistical analysis. **Results:** Compared to tumors with a HER2-neu positivity pre-CT (39/90 cases or 43%) and post-CT (20/90 cases or 22,2%) and PrIR pre-CT (43/90 cases or 47,8%) and post-CT (25/90 cases or 27,8%) there was a significant statistical decrease of post-CT tumor expression for these markers. There was no significant difference in the expression of ER and PR pre and post-CT and the Kappa index showed a moderate concordance for ER and PR (0,51) and a low concordance for HER2-neu (0,49) and PrIR (0,37) in the variation of positivity and negativity expression of such markers. **Conclusion:** The expression of PrIR and HER2-neu showed a significant difference in its expression prior to and post CT, which did not happen with ER and PR. The concordance of these markers pre and post CT was low, which suggests that we must carry out the immunohistochemical analysis after CT. There was no

predictive response value to CT for any of the studied marker, which indicates that tumor response does not depend on pre-CT expression, nor on tumor markers expression change post – CT.

**Key Words:** Breast cancer, HER2-neu, estrogen receptor, progesterone receptor, prolactin receptor, neoadjuvant chemotherapy.

## Introduction

Breast cancer has a terrible impact on women's health. It is the second leading cancer in the world and the first among women (INCA 2008). The incidence of breast neoplasm grows continuously as patients age and its growth curve presents a higher acceleration in the 5th and 6th decades of life (Porter 2001). In spite of the efforts for early detection and therapeutic strides, the world survival rate in 5 years is about 61% (INCA 2008).

Research about predictive factors and prognostic with a view to optimize treatment has been one of the greatest challenges in the research of breast cancer. The axillary gland node has been the prognostic factor of greater impact in breast neoplasm (Nemoto 1980, Saez 1989, Veronesi 2003) and it is the risk parameter which indicates the strategy intensification of systemic adjuvance. (bu-Khalaf 2005, Batelli 2006) Other factors, such as clinical (patient's age), pathological (histological type, size and tumor degree) as well as biological (condition of estrogen, progesterone and HER2-neu receptors) are considered valuable measures of the disease's progression risk and they influence the choice of systemic interventions.

The estrogen receptors (ER) and progesterone receptors (PR) belong to a family of hormone nuclear receptors and act as transcription factors when activated by their respective bindings (Harris 2004). The positivity of breast cancer cases for ER varies between 60-81% and for PR, between 44-61% (Stierer 1993,

Kuukasjarvi 1996). Most authors show a positive association between the presence of HR and a more favorable prognostic (Mansour 1994, Mauri 1999). Hormonal responsiveness potential, as expressed in the quantification of ER and PR, is one of the main reasons for a therapeutic decision in the case of a breast cancer. (Golhirsch 2005)

The c-erb-B2 belongs to a family of type 1 tyrosinase growth factor receptors (Rajkumar 1994) and it is translated into a glycoprotein expressed in low levels in the epithelial and myoepithelial cells in the breast. It is a tumor promotion mechanism which influences the resistance to systemic therapy and host immunologic vigilance. It reflects a negative prognostic. (Slamon 1987, Allred 1998, Baselga 2001, Del Maestro 2005, Piccart-Geghart 2005, Hitt 2006, Francis 2006).

Prolactin is a primary production pituitary hormone with an essential role in growth, differentiation and normal development of the mammary gland (de Castillo 2004, Tworoger 2006). In vitro testing has implicated prolactin in tumorigenesis of several different tissues, in particular the breast (Janssen 1996). Mechanisms such as the promotion of cell proliferation, inhibition of apoptosis, cellular motility as well as angiogenesis have been suggested (Goffin 2005, Tworoger 2006). Also, their stimulant effects over the cellular cycle seem to be enhanced by estradiol (Gutzman, 2004). Autocrine/paracrine stimulation by both normal and neoplastic cells is pointed out as one of the mechanisms which are likely to be involved (Vonderhaar 1999, Tworoger 2006). Prolactin immunohistochemical expression in the cytoplasm of breast cells reaches 80 % of cases and it is an independent predictor of a worsened survival. (Bhatavdekar 2000a, Bhatavdekar 2000b)

Systemic treatment has been amply indicated in the handling of breast cancer (Kaufmann 2006) and its reliability confirmed , with low indexes of progression during chemotherapy and toxicity similar to adjuvant treatment (Kaufmann 2006). This approach improves surgical conditions, even in patients with a locally advanced disease, in spite of the increase in conservative surgical rates. (Wolff 2000) The increase in conservative surgery rates has caused neoadjuvant chemotherapy with anthracycline to be incorporated as a therapeutic alternative for patients with an unfavorable volumetric relationship between the tumor and the breast, (INCA consensus doc 2006, NCCN 2009, NCI 2009).

Post-operative systemic treatment also makes the assessment of in vivo tumor response possible, as it is associated to a long term favorable outcome (Van Minckwitz 2005), mainly in cases with a full pathological response (Kuerer 1999, Wolmark 2001, Bear 2006). Random trials comparing pattern schemes in adjuvance with neoadjuvant treatment did not show primary therapy to be superior in regard to global survival and disease free relapse (Wolmark 2001, van der Hage 2001, Bear 2006).

Tissue Fragment biopsy is often the only sample used to assess prognostic and predictive markers prior to neoadjuvant systemic treatment. (Burge 2006) As breast cancer has a large variety of histological and immunohistochemical findings, concordance with and possible changes between biopsy pre-CT and the surgical piece post-CT are a challenge to the pathologist and to the mastologist clinical decision. (Renault Lorca 2008, Pusztai 2008, Sahoo 2009).

Furthermore, identifying predictive factors of response to primary systemic treatment may have a reasonable clinical potential and the future of neoadjuvant

treatment requires its individualization through target therapies. (Miglietta 2009). The role of histological and immunohistochemical markers has been extensively studied for such purpose. (Renault Lorca 2008, Nishimura 2009, Shien 2009).

The aim of this paper is to compare the immunohistochemical expression in prolactin, HER2-neu, estrogen and progesterone receptors in breast cancer prior to and post-neoadjuvant chemotherapy and to evaluate whether the studied immunohistochemical markers are associated with tumor response and with adjuvant therapy.

## **Materials and methods**

### **Patients**

We selected 90 cases of invasive breast cancer, which were histologically confirmed after review of slides by researchers. The paraffin blocks were taken from the archives of Pathology Services of Nossa Senhora da Conceição Hospital and from the Santa Rita Hospital in Porto Alegre, Rio Grande do Sul. We included women who had invasive breast cancer, with a need for surgery, and who were submitted to primary chemotherapy based on antracyclic (at least three whole cycles) and after surgical treatment. We excluded men, pregnant women, inflammatory cancer, metastatic disease, full pathological response and those who were submitted to neoadjuvant hormone-therapy.

### **Immunohistochemistry**

The paraffin blocks were cut in rotative microtome, thus creating 6 different cuts (3 micrometers thick), 5 of which were prepared with organosilane. The slides were incubated at 60 C for 20 min for paraffin removal, and then, dipped in xilol for 10 min, then followed by 5 sequential immersions in absolute alcohol. In order to recover the antigens, the slides were put in sodium citrate, pH 6, at room temperature and then brought to boil in a microwave for ten minutes. After returning to room temperature, the slides were washed twice for 5 minutes in a PBS buffer solution (pH 7, 2-7, 8) and then incubated in hydrogen peroxide 3 % for 10 min. After blockage of non specific sites with regular horse serum (DAKO A/S, Glostrup, Denmark) in PBS, according to the manual. The slides were washed in distilled water twice for five minutes in a PBS solution. The primary antibodies were incubated according to their dilution: prolactin receptor (DAKO polyclonal, Glostrup, Denmark) 1:1000, estrogen receptor (Novocastra Newcastle-United Kingdom) 1:200, progesterone receptor (Novocastra, Newcastle – United Kingdom) 1:100 and c-erb-B2 (DAKO polyclonal, Glostrup Denmark) 1:500. After 12 hours incubation, the slides were washed twice for five minutes in a PBS buffer solution, and then incubated once more in a humid chamber for 30 seconds with a secondary antibody (mouse biotinylated antibody, anti IgG, LSAB2 system, DAKO, DAKO, A/S Denmark) and in streptavidin complex pre-formed biotin (Strepto ABC, LSAB2 system DAKO DAKO A/S Denmark) in order to detect the primary antibody, as instructed in the manual. The slides were counterstained with hematoxylin, put together and analyzed in an optical microscope.



The slides stained by immunohistochemistry were submitted to standardized methods and had their positive and negative external control previously found. The preparation of the slides was carried out once and in a well known laboratory. Four different researchers (MCS, EC, JLP, CGZ) assessed the slides in an unbiased and independent way. In the cases where there was discordance, a reevaluation followed after consensus was reached. Positivity expression for each marker was: ER (clone 1D5), PR (clone PgR 636), with 1% or more of nuclei stained in 10 sites of great increase (CGA), (Ferrero-Pous 2001, Pinto 2005) c-erb-B2 (polyclonal antibody) with a score 3 in positivity, presenting strong and full cellular membrane brownish coloring in more than 30% of neoplastic cells and score 2, presenting full weak/mild coloring in more than 10% of cells. Those cells with a cell membrane color score 1, presenting weak coloring in a part of the membrane in more than 10% of cells were considered negative. (Jacobs 1999) Prolactin receptors (polyclonal antibody) with a score 3 in positivity, presenting a cytoplasm coloring in more than 50 % of stained cells (Bhatavdekar 2000a) and with score 2, where between 10 and 50 % of cells presented a brownish colored cytoplasm are considered positive (Bhatavdekar 2000a, Bhatavdekar 2000b, Gill 2001). Those with score 1, presenting coloring in less than 10% of cells are considered negative. By way of positive control we used human pituitary tissue (Bhatavdekar 2000) and as negative control a case clearly proven negative.

### **Ethics committee and statistical analysis**

The project was submitted and approved by the ethics committee of Medical Sciences of the Federal University of Porto Alegre. The size of the sampling was calculated in 88 patients, based on an estimate of a positive impact magnitude on immunohistochemical expression over the main outcome in 35%, with 10% margin of error. We considered an alpha error of 5% and a power of 80 %.

We created an Excel data bank which was later exported into SPSS version 15.0 for the statistical data analysis. In order to describe the categorical variables we used absolute frequency and percent relative frequencies and their respective confidence intervals at 95%. In order to evaluate the association between marker expression prior to and post-CT we used McNemar's test and the Kappa coefficient was used to assess the concordance between pre and post-CT values. To evaluate the association between response to CT and markers, and the histological degree with the latter, we used the chi-square test. We considered a significance level of 5%.

## **Results**

The clinical, laboratory and pathological findings are summarized in table 1. Comparison between immunohistochemical markers pre and post-CT showed low and mild concordance ( $k=0,37-0,51$ ) and no significant difference in the expression of hormonal receptors for breast cancer. There was a significant decrease in tumor size pre and post-CT, 6,15 - 3,97 cm.

Comparison between HER2-neu receptors and prolactin showed a significant difference with an expression decrease of these markers after neoadjuvant CT, as it is shown in table 2.

Table 1.- Sample characteristics

Variables	n=90
Age variation	30-89
Age average	57,02±11,6
Surgery type	
Conservative	26(28,9)
Radical	64(71,1)
Surgical stay	
Average size pré-CT	6,15±2,8
Average size post-CT	3,97±2,96
Tumor response	59(65,6)
ER positive (pré/post)	48(53,3)/50(55,6)
PR positive (pré/post)	42(46,7)/40(44,4)
HER2-neu positive (pre/post)	39(43,3)/20(22,2)
Prl positive (pre/post)	43(47,8)/25(27,8)
Histological type	
IDC	81(90)
ILC	6(6,7)
IDC special type	3(3,3)
Histological degree	
3	40(44,4)
2	40(44,4)
1	10(11,1)

Categorical Variables described by n(%) and quantitative by mean ±mean deviation

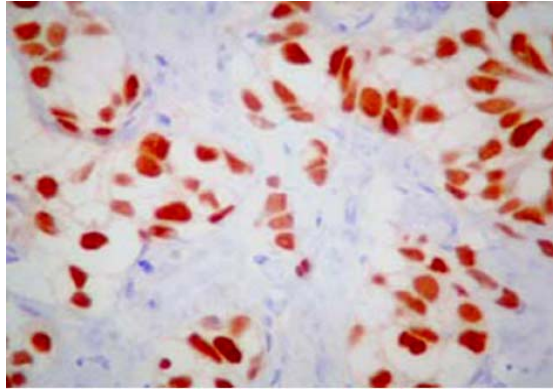
Table 2 – Change in immunohistochemical expression for HER2-neu, estrogen, progesterone and prolactin receptors in tumors pre and post neoadjuvant chemotherapy.

TUMOR MARKER	Change to negative	Change to positive	P*
HER2	21(23,3) CI95% (15,5-32,9)	2(2,2) CI95% (0,4-7,1)	<0,001
RE	10(11,1) CI95% (5,8-18,9)	12(13,3) CI95% (7,4-21,6)	0,832
RP	12(13,3) CI95% (7,4-21,6)	10(11,1) CI95% (5,8-18,9)	0,832
Prl	23(25,6) CI95% (17,4-35,3)	5(5,6) CI95% (2,1-11,9)	0,001

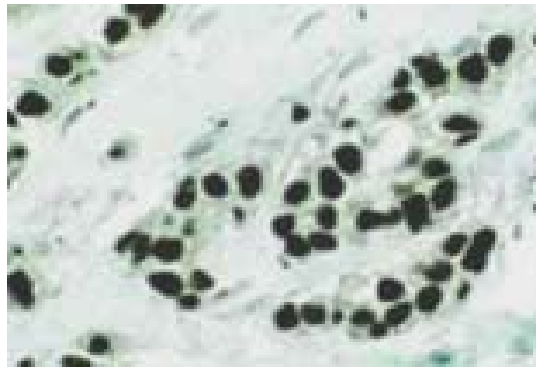
Data presented with n(%) and confidence interval (CI%) at 95%

\* McNemar's test

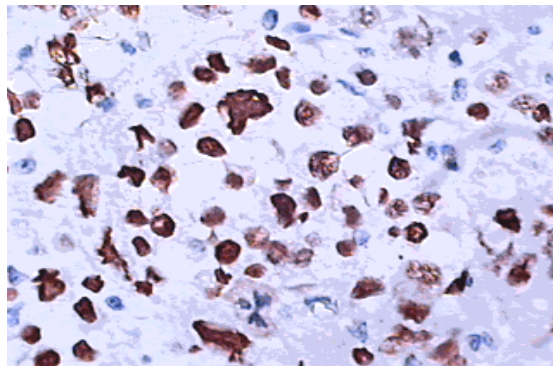
Assessment between CT response association with immunohistochemical markers expression in biopsy pre-CT showed a greater pathological response to CT in ER, PR and HER2-neu positive patients, and in those PrIR negative, but none of these results found significant differences (data not shown). The pictures 1 to 8 below show immunohistochemical slides of studied markers in cases pre and post- primary chemotherapy.



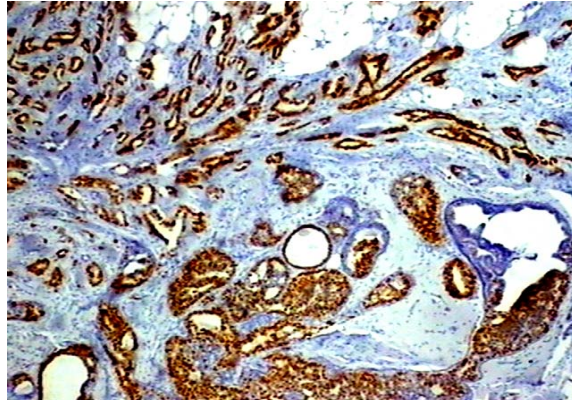
Picture 1 – Estrogen nuclear receptor immunopositivity >95% of breast cancer cells post - chemotherapy( X 100)



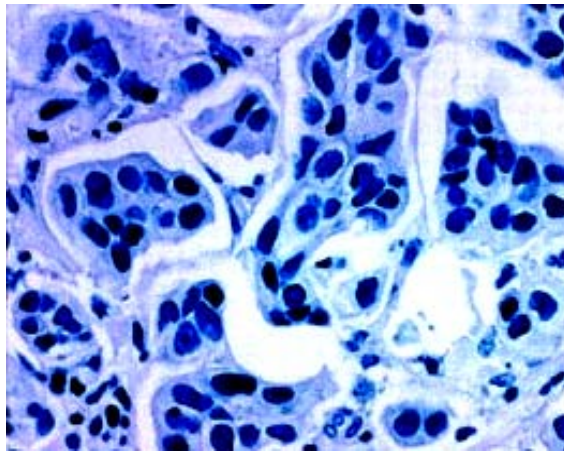
Picture 2 - Estrogen nuclear receptor immunopositivity 90% of breast cancer cells pre-chemotherapy (X100).



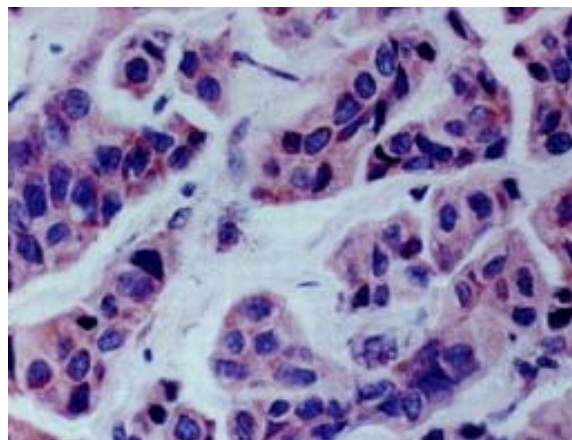
Picture 3 – Progesterone nuclear receptor immunopositivity 80% of breast cancer cells post chemotherapy (X 100).



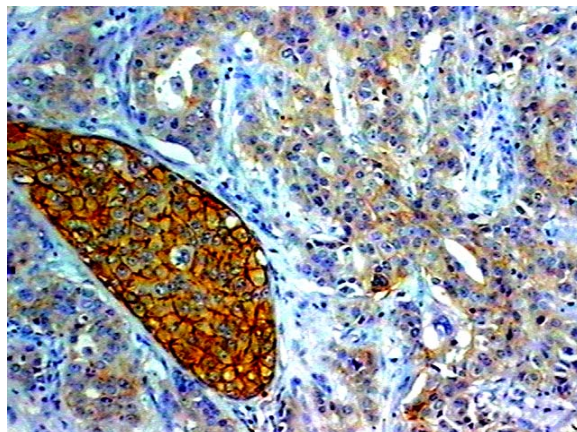
Picture 4 – Progesterone nuclear receptor immunopositivity >90% of breast cancer cells pre chemotherapy –both infiltrant component and intraductal component (X 40).



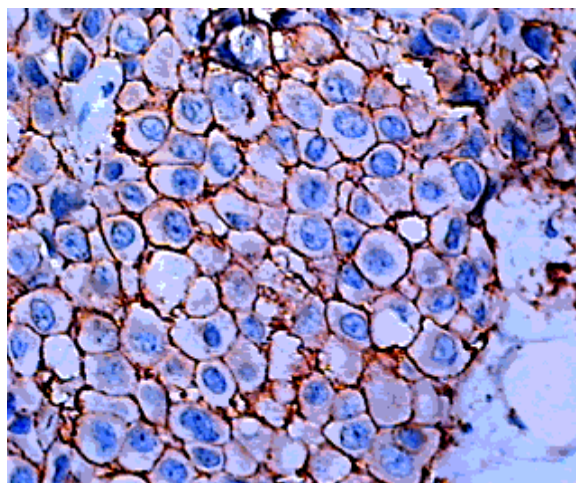
Picture 5 – Negative immunopositivity of RPrI in breast cancer post chemotherapy(X100).



Picture 6 – Immunopositivity of RPrI with cytoplasm staining in breast cancer pré-chemotherapy(X100).



Picture 7 – Negative staining of HER2-neu cell membrane in infiltrant component of breast cancer and positive score 3 in intraductal component, pré-chemotherapy (X40).



Picture 8 – HER2-neu positive membrane immunorexpression score 3 in breast cancer post-chemotherapy (X100).

## DISCUSSION

Breast cancer shows a large variety in its pathological aspects clinical behavior. Tumor markers have been used as a way of classifying tumor type, with a view to individualizing treatment. (Harris 2007).

Chemotherapy effect in histological and immunohistochemical markers and those of genetic expression has been greatly evaluated. (Goldhirsch 2009, Burcombi 2008) Many markers are being studied in an attempt to identify predictive factors for neoadjuvant systemic treatment and, thus establishing groups which have profited from treatment, and mainly, identifying where treatment response is poorer. (Chow 2006, Liedtke 2008)

This study compared immunohistochemical expression of tumor markers (HER2-neu and estrogen, progesterone and prolactin receptors) in a fragment biopsy in invasive breast carcinoma cases before neoadjuvant chemotherapy with the anatomopathological specimen of definitive surgery and investigated a possible relation between such immunohistochemical markers in pre-CT biopsy with pathological tumor response, similar to researches by Adams et al, (Adams 2008)

Comparison between HER2-neu, ER, PR and prolactine receptor immunohistochemical markers showed that there is low and mild concordance, as verified by the Kappa indexes. In spite of the similarities among the hormonal receptors analyzed prior to and after systemic treatment, the low association by the Kappa index suggests that tumors suffer significant qualitative alterations in their clonal cell population. With regard to HER2-neu and prolactin receptors, there was a significant decrease in the expression of these markers after neoadjuvant



chemotherapy, thus showing a change in tumor immunohistochemical profile, as caused by chemotherapy.

There is great controversy and divergence of results in relation to changes in immunohistochemical expression pre and post-CT. Previous studies have found differences in several markers, findings which are in accordance with data found in the present study. (Lee 2003, Zhao 2004, Wang 2005, Adams 2008).

Conversely, the data obtained by Von Minckwitz et al and other authors claim to be no significant alteration in histological markers and the immunohistochemical profile after primary systemic treatment. (Koda 2007, Kasami 2008) Furthermore, a different immunohistochemical profile in relation to the primary tumor was also shown in studies which evaluated both local recurrence (Pedrini 2004), and the axillary metastases. (Koda 2007)

Our results suggest that the reevaluation of immunohistochemical markers after neoadjuvant chemotherapy is necessary, given the significant changes in its expression and a possible change in the adjuvant systemic treatment strategy. This is also recommended by Lee et al (2003) and Wang et al (2005).

In the present study, immunohistochemical markers expression was not associated with differences in tumor response to neoadjuvant treatment, which suggests that the studied markers are not predictive of tumor response, despite the fact that the sample size may have been a restricting factor of such results.

The data agrees with the findings by Von Minckwitz et al (2008) which claim that it is not possible to predict a full pathological response based on routinely clinical and biological factors.

## CONCLUSION

Prolactin and HER2-neu expression showed a significant difference in their pre and post-CT expression, which did not happen with the estrogen and progesterone receptors. We observed that the pre and post-CT concordance of these markers was low, which suggests that immunohistochemical analysis must be carried out after CT.

None of the studied markers showed any predictive response value to CT. In this study, tumor response to CT is not dependent on expression prior to or change of expression of tumor markers after CT.

Hormonal receptors and HER2-neu have a predictive value for the treatment of breast cancer. As immunohistochemical concordance prior to and after CT was moderate, we suggest that more studies be carried out to define what is the most appropriate moment, prior to or after CT, for the assessment of immunohistochemical, genomic and proteomic markers.

## REFERENCES

Instituto Nacional de Câncer - INCA, Estimativa 2008 - Incidência de Câncer no Brasil. 2008

Porter, D. A., Krop, I. E., Nasser, S., Sgroi, D., Kaelin, C. M., Marks, J. R., Riggins, G., and Polyak, K., A SAGE (serial analysis of gene expression) view of breast tumor progression. *Cancer Res.*,61(15):5697-5702, 2001

Saez, R. A., McGuire, W. L., and Clark, G. M., Prognostic factors in breast cancer. *Semin.Surg.Oncol.*,5(2):102-110, 1989

Nemoto, T., Vana, J., Bedwani, R. N., Baker, H. W., McGregor, F. H., and Murphy, G. P., Management and survival of female breast cancer: results of a national survey by the American College of Surgeons. *Cancer.*,45(12):2917-2924, 1980

Veronesi, U., Paganelli, G., Viale, G., Luini, A., Zurrada, S., Galimberti, V., Intra, M., Veronesi, P., Robertson, C., Maisonneuve, P., Renne, G., De, Cicco C., De, Lucia F., and Gennari, R., A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N.Engl.J.Med.*,349(6):546-553, 2003

bu-Khalaf, M. M., Windsor, S., Ebisu, K., Salikooti, S., Ananthanarayanan, G., Chung, G. G., DiGiovanna, M. P., Haffty, B. G., Abrams, M., Farber, L. R., Hsu, A. D., Reiss, M.,

Zelteman, D., and Burtness, B. A., Five-year update of an expanded phase II study of dose-dense and -intense doxorubicin, paclitaxel and cyclophosphamide (ATC) in high-risk breast cancer. *Oncology*,69(5):372-383, 2005

Battelli, N., Massacesi, C., Braconi, C., Pilone, A., Manzione, L., Dinota, A., Cobelli, S., Scanni, A., Sturba, F., Giacomini, G., Morale, D., Giorgi, F., Tummarello, D., and Cascinu, S., Paclitaxel and epirubicin followed by cyclophosphamide, methotrexate and 5-fluorouracil for patients with stage IIIC breast cancer with ten or more involved axillary lymph nodes. *Am.J.Clin.Oncol.*,29(4):380-384, 2006

Goldhirsch, A., Ingle, J. N., Gelber, R. D., Coates, A. S., Thürlimann, B., Senn, H. J.; Panel members. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann. Oncol.*,20(8):1319-29, 2009

Baehner, F. L., Estrogen Receptor Positive Breast Cancer: Traditional Prognostics Meet A New Breast Cancer Taxonomy and 21st Century Prognostic and Predictive Assays. American College of Pathologist Publications.,2006

Elston, C. W. and Ellis, I. O., *The Breast*. 1998

Harris, J. R, Lippman, M. E, Morrow, M., and Osborne, C. K, *Diseases of Breast*. 2004

Kuukasjarvi, T., Kononen, J., Helin, H., Holli, K., and Isola, J., Loss of estrogen receptor in recurrent breast cancer is associated with poor response to endocrine therapy. *J.Clin.Oncol.*,14(9):2584-2589, 1996

Stierer, M., Rosen, H., Weber, R., Hanak, H., Spona, J., and Tuchler, H., Immunohistochemical and biochemical measurement of estrogen and progesterone receptors in primary breast cancer. Correlation of histopathology and prognostic factors. *Ann.Surg.*,218(1):13-21, 1993

Rosen PP, *Breast Pathology*. 1997

Mansour, E. G., Ravdin, P. M., and Dressler, L., Prognostic factors in early breast carcinoma. *Cancer.*,74(1 Suppl):381-400, 1994

Mauri, F. A., Maisonneuve, P., Caffo, O., Veronese, S., Aldovini, D., Ferrero, S., Cozzaglio, F., Dalla, Palma P., Galligioni, E., and Barbareschi, M., Prognostic value of estrogen receptor status can be improved by combined evaluation of p53, Bcl2 and PgR expression: an immunohistochemical study on breast carcinoma with long-term follow-up. *Int.J.Oncol.*,15(6):1137-1147, 1999

Goldhirsch, A., Glick, J. H., Gelber, R. D., Coates, A. S., Thurlimann, B., and Senn, H. J., Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Ann.Oncol.*,16(10):1569-1583, 2005

Rajkumar T, Gullick WJ. The type 1 growth factor receptors in human breast cancer. *Breast cancer res treat.* 1994; 29:1.

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.

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.

Hitt E. Anthracycline-based therapy improves outcomes in patients with early stage HER2-positive breast cancer, presented at SABCS. San Antonio, 2006 Dec 18.

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.

Baselga J. Clinical trials of trastuzumab. *Eur. J. Cancer.* 2001 Jan; 37(1):18-24.

Slamon, D. J., Clark, G. M., Wong, S. G., Levin, W. J., Ullrich, A., and McGuire, W. L., Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science.*,235(4785):177-182, 1987

Piccart-Gebhart, M. J., Procter, M., Leyland-Jones, B., Goldhirsch, A., Untch, M., Smith, I., Gianni, L., Baselga, J., Bell, R., Jackisch, C., Cameron, D., Dowsett, M., Barrios, C. H., Steger, G., Huang, C. S., Andersson, M., Inbar, M., Lichinitser, M., Lang, I., Nitz, U., Iwata, H., Thomssen, C., Lohrisch, C., Suter, T. M., Ruschoff, J., Suto, T., Grotzer, V., Ward, C., Straehle, C., McFadden, E., Dolci, M. S., and Gelber, R. D., Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N.Engl.J.Med.*,353(16):1659-1672, 2005

de, Castillo B., Cawthorn, S., Moppett, J., Shere, M., and Norman, M., Expression of prolactin receptor mRNA in oestrogen receptor positive breast cancers pre- and post-tamoxifen therapy. *Eur.J.Surg.Oncol.*,30(5):515-519, 2004

Tworoger, S. S. and Hankinson, S. E., Prolactin and breast cancer risk. *Cancer Lett.*,2006

Janssen, T., Darro, F., Petein, M., Raviv, G., Pasteels, J. L., Kiss, R., and Schulman, C. C., In vitro characterization of prolactin-induced effects on proliferation in the neoplastic LNCaP, DU145, and PC3 models of the human prostate. *Cancer.*,77(1):144-149, 1996

Goffin, V., Bernichtein, S., Touraine, P., and Kelly, P. A., Development and potential clinical uses of human prolactin receptor antagonists. *Endocr.Rev.*,26(3):400-422, 2005

Gutzman, J. H., Miller, K. K., and Schuler, L. A., Endogenous human prolactin and not exogenous human prolactin induces estrogen receptor alpha and prolactin receptor

expression and increases estrogen responsiveness in breast cancer cells. *J.Steroid Biochem.Mol.Biol.*,88(1):69-77, 2004

Vonderhaar, B. K., Prolactin involvement in breast cancer. *Endocr.Relat Cancer.*,6(3):389-404, 1999

Bhatavdekar, J. M., Patel, D. D., Shah, N. G., Vora, H. H., Suthar, T. P., Ghosh, N., Chikhlikar, P. R., and Trivedi, T. I., Prolactin as a local growth promoter in patients with breast cancer: GCRI experience. *Eur.J.Surg.Oncol.*,26(6):540-547, 2000

Bhatavdekar, J. M., Patel, D. D., Shah, N. G., Vora, H. H., Suthar, T. P., Chikhlikar, P. R., Ghosh, N., and Trivedi, T. I., Prognostic significance of immunohistochemically localized biomarkers in stage II and stage III breast cancer: a multivariate analysis. *Ann.Surg.Oncol.*,7(4):305-311, 2000

Kaufmann, M., Hortobagyi, G. N., Goldhirsch, A., Scholl, S., Makris, A., Valagussa, P., Blohmer, J. U., Eiermann, W., Jackesz, R., Jonat, W., Lebeau, A., Loibl, S., Miller, W., Seeber, S., Semiglazov, V., Smith, R., Souchon, R., Stearns, V., Untch, M., and von, Minckwitz G., Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: an update. *J.Clin.Oncol.*,24(12):1940-1949, 2006

National Comprehensive Cancer Network, The NCCN Breast Cancer - Clinical Practice Guidelines in Oncology. Version V2.2009(2009)



Instituto Nacional de Câncer - INCA, Controle do Câncer de Mama - Documento de Consenso. 2009.

National Cancer Institute, PDQ Cancer Information Summaries: Adult Treatment - Breast Cancer. 2009.

von, Minckwitz G., Raab, G., Caputo, A., Schutte, M., Hilfrich, J., Blohmer, J. U., Gerber, B., Costa, S. D., Merkle, E., Eidtmann, H., Lampe, D., Jackisch, C., du, Bois A., and Kaufmann, M., Doxorubicin with cyclophosphamide followed by docetaxel every 21 days compared with doxorubicin and docetaxel every 14 days as preoperative treatment in operable breast cancer: the GEPARDUO study of the German Breast Group. *J.Clin.Oncol.*,23(12):2676-2685, 2005

Wolmark, N., Wang, J., Mamounas, E., Bryant, J., and Fisher, B., Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J.Natl.Cancer Inst.Monogr.*,30):96-102, 2001

Kuerer, H. M., Newman, L. A., Smith, T. L., Ames, F. C., Hunt, K. K., Dhingra, K., Theriault, R. L., Singh, G., Binkley, S. M., Sneige, N., Buchholz, T. A., Ross, M. I., McNeese, M. D., Buzdar, A. U., Hortobagyi, G. N., and Singletary, S. E., Clinical course of breast cancer patients with complete pathologic primary tumor and axillary lymph node

response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy. *J.Clin.Oncol.*,17(2):460-469, 1999

Bear, H. D., Anderson, S., Smith, R. E., Geyer, C. E., Jr., Mamounas, E. P., Fisher, B., Brown, A. M., Robidoux, A., Margolese, R., Kahlenberg, M. S., Paik, S., Soran, A., Wickerham, D. L., and Wolmark, N., Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide for operable breast cancer:National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J.Clin.Oncol.*,24(13):2019-2027, 2006

van der Hage, J. A., van, de, V, Julien, J. P., Tubiana-Hulin, M., Vandervelden, C., and Duchateau, L., Preoperative chemotherapy in primary operable breast cancer: results from the European Organization for Research and Treatment of Cancer trial 10902. *J.Clin.Oncol.*,19(22):4224-4237, 2001

Burge, C. N., Chang, H. R., Apple, S. K. Do the histologic features and results of breast cancer biomarker studies differ between core biopsy and surgical excision specimens? *Breast*,15(2):167-72,2006

Sahoo, S., Lester, S. C., Pathology of breast carcinomas after neoadjuvant chemotherapy: an overview with recommendations on specimen processing and reporting. : *Arch. Pathol. Lab. Med.*,133(4):633-42, 2009

Renault-Llorca, F., Abrial, C., Raoelfils, I., Chollet, P., Cayre, A., Mouret-Reynier, M. A., Thivat, E., Mishellany, F., Gimbergues, P., Durando, X., Changes and predictive and prognostic value of the mitotic index, Ki-67, cyclin D1, and cyclo-oxygenase-2 in 710 operable breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Oncologist*,13(12):1235-45,2008

Pusztai, L., Preoperative systemic chemotherapy and pathologic assessment of response. : *Pathol. Oncol. Res.*,14(2):169-71, 2008

Miglietta, L., Vanella, P., Canobbio, L., Parodi, M. A., Guglielmini, P., Boccardo, F., Clinical and pathological response to primary chemotherapy in patients with locally advanced breast cancer grouped according to hormonal receptors, Her2 status, grading and Ki-67 proliferation index. *Anticancer Res.*,29(5):1621-5, 2009

Nishimura, R., Osako, T., Okumura, Y., Hayashi, M., Arima, N., Clinical significance of Ki-67 in neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer as a predictor for chemosensitivity and for prognosis. *Breast Cancer*. 2009 Sep 4

Shien, T., Akashi-Tanaka, S., Miyakawa, K., Hojo, T., Shimizu, C., Seki, K., Ando, M., Kohno, T., Taira, N., Doihara, H., Katsumata, N., Fujiwara, Y., Kinoshita, T., Clinicopathological features of tumors as predictors of the efficacy of primary neoadjuvant chemotherapy for operable breast cancer. *World. J. Surg.*,33(1):44-51,2009

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.

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.

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.

Gill, S., Peston, D., Vonderhaar, B. K., and Shousha, S., Expression of prolactin receptors in normal, benign, and malignant breast tissue: an immunohistological study. *J.Clin.Pathol.*,54(12):956-960, 2001

Harris L, Fritsche H, Mennel R, et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25:5287–5312.

Goldhirsch, A., Ingle, J. N., Gelber, R.D., Coates, A.S., Thürlimann, B., Senn, H.J., Panel members, Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann. Oncol.*,20(8):1319-29, 2009

Burcombe, R. J., Makris, A., Richman, P. I., Daley, F. M., Noble, S., Pittam, M., Wright, D., Allen, S. A., Dove, J., and Wilson, G. D., Evaluation of ER, PgR, HER-2 and Ki-67 as predictors of response to neoadjuvant anthracycline chemotherapy for operable breast cancer. *Br.J.Cancer.*,92(1):147-155, 2005

Chow, L. W., Yiu, C.C., Yip, A.Y., Loo, W. T., The future perspectives of breast cancer therapy. *Biomed. Pharmacother.*,60(6):259-62, 2006

Liedtke, C., Mazouni, C., Hess, K. R., André, F., Tordai, A., Mejia, J. A., Symmans, W. F., Gonzalez-Angulo, A. M., Hennesy, B., Green, M., Cristofanilli M., Hortobagyi, G. N., Pusztai, L., Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 10;26(8):1275-81, 2008

Adams, A. L., Eltoum, I., Krontiras, H., Wang, W., Chhieng, D. C., The effect of neoadjuvant chemotherapy on histologic grade, hormone receptor status, and HER2/neu status in breast carcinoma. *Breast J.*,14(2):141-6, 2008

Zhao, J., Wu, Y. L., Wang, Y. D., Zhao, G. R., Wang, J., Effects of neoadjuvant chemotherapy on estrogen and progesterone receptors and HER-2 in breast cancer. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 24(12):1437-9, 2004

Lee, S. H., Chung, M.A., Quddus, M. R., Steinhoff, M.M., Cady, B., The effect of neoadjuvant chemotherapy on estrogen and progesterone receptor expression and hormone receptor status in breast cancer. *Am. J. Surg.*, 186(4):348-50,2003

Wang, S., Zhang, J. Q., Qiao, X. M., Yang, D. Q., Tong, F. Z., Liu, H. J., The effect of neoadjuvant chemotherapy on estrogen and progesterone receptor expression in breast carcinoma. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*, 43(15):1011-3, 2005

von Minckwitz, G., Sinn, H. P., Raab, G., Loibl, S., Blohmer, J. U., Eidtmann, H., Hilfrich, J., Merkle, E., Jackisch, C., Costa, S. D., Caputo, A., Kaufmann, M.; German Breast Group, Clinical response after two cycles compared to HER2, Ki-67, p53, and bcl-2 in independently predicting a pathological complete response after preoperative chemotherapy in patients with operable carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res.*,10(2):R30, 2008

Koda, M., Lenczewski, A., Sulkowska, M., Kanczuga-Koda, L., Wincewicz, A., Tomaszewski, J., Sulkowski, S., The effect of chemotherapy on status of estrogen receptors in primary tumors and lymph node metastases of human ductal breast cancer. *Oncol Rep.*,17(2):385-91, 2007

Kasami, M., Uematsu, T., Honda, M., Yabuzaki, T., Sanuki, J., Uchida, Y., Sugimura, H., Comparison of estrogen receptor, progesterone receptor and Her-2 status in breast cancer pre- and post-neoadjuvant chemotherapy. *Breast*, 17(5):523-7, 2008

Pedrini JL, Pedrini M, Savaris RF, et al. Reassessing tumor markers in local recurrences of breast cancer: a new insight. *Med Sci Monit.*2004;10:BR462–BR467

## **7. ANEXOS**



Tabela 3.- Características da amostra.

variáveis	n=90
Variação de idade	30-89
Média de idade	57,02±11,6
tipo de cirurgia	
conservadora	26(28,9)
radical	64(71,1)
estadiamento cirúrgico	
tamanho médio pré-qt	6,15±2,8
tamanho médio pós-qt	3,97±2,96
Resposta tumoral	59(65,6)
Re positivo (pré/pós)	48(53,3)/50(55,6)
RP positivo (pré/pós)	42(46,7)/40(44,4)
HER2-neu positivo (pré/pós)	39(43,3)/20(22,2)
Prl positivo (pré/pós)	43(47,8)/25(27,8)
tipo histológico	
CDI	81(90)
CLI	6(6,7)
CDI tipo especial	3(3,3)
grau histológico	
3	40(44,4)
2	40(44,4)
1	10(11,1)

Variáveis categoricas descritas pelo n(%) e quantitativas pela media ±desvio padrão

Tabela 4 – Comparação entre o perfil da expressão imuno-histoquímica dos marcadores pré e pós-QT.

Receptores	Permaneceu positivo	Negativou	Positivou	Permaneceu negativo
<b>RE</b>	38(42,2) IC95% (32,3-52,6)	10(11,1) IC95% (5,8-18,9)	12(13,3) IC95% (7,4-21,6)	30(33,3) IC95% (24,2-43,5)
<b>RP</b>	30(33,3) IC95% (24,2-43,5)	12(13,3) IC95% (7,4-21,6)	10(11,1) IC95% (5,8-18,9)	38(42,2) IC95% (32,3-52,6)
<b>HER2</b>	18(20) IC95% (12,7-29,2)	21(23,3) IC95% (15,5-32,9)	2(2,2) IC95% (0,4-7,1)	49(54,4) IC95% (44,1-64,5)
<b>PRL</b>	20(22,2) IC95% (14,5-31,7)	23(25,6) IC95% (17,4-35,3)	5(5,6) IC95% (2,1-11,9)	42(46,7) IC95% (36,5-57,0)

Resultados descritos com n(%) e intervalo de confiança de 95% para o percentual (IC95%)

Tabela 5 – Frequências absolutas e relativas percentuais de casos segundo a classificação molecular dos tumores de mama.

Grupo tumoral	n (%)
HER2-neu	17 (18,9)
Luminal	28 (31,1)
Triplo negativo	19 (21,1)
HER2-neu +/- RE +/- RP +	17 (18,9)
Outros perfis	9 (10,0)
Total	90 (100,0)

Tabela 6 – Resposta patológica tumoral à QT neoadjuvante dos grupos classificados conforme seu subtipo molecular

Grupo tumoral	Resposta positiva n(%)	n
HER2-neu	9(52,9)	17
Luminal	17(60,7)	28
Triplo negativo	11(57,9)	19
HER2-neu +/RE +/RP +	15(88,2)	17
Outros perfis	7(77,8)	9
Total	59(65,6)	90

Tabela 7 – Mudança na expressão imuno-histoquímica do HER2-neu, receptores de estrogênio, progesterona e prolactina nos tumores pré e pós-quimioterapia neoadjuvante.

Receptores	Negativaram	Positivaram	P*
<b>HER2</b>	21(23,3) IC95% (15,5-32,9)	2(2,2) IC95% (0,4-7,1)	<0,001
<b>RE</b>	10(11,1) IC95% (5,8-18,9)	12(13,3) IC95% (7,4-21,6)	0,832
<b>RP</b>	12(13,3) IC95% (7,4-21,6)	10(11,1) IC95% (5,8-18,9)	0,832
<b>PrI</b>	23(25,6) IC95% (17,4-35,3)	5(5,6) IC95% (2,1-11,9)	0,001

Os dados são apresentados com n(%) e Intervalo de confiança de 95% para o percentual (IC95%)

\* Teste de Mc Nemar

Tabela 8 – Associação entre resposta tumoral e expressão imuno-histoquímica dos marcadores pré e pós-quimioterapia

Receptores		Resposta tumoral	Sem resposta	Total	P*
		n=59	n=31		
RE	Permaneceu positivo	27(45,8)	11(35,5)	38(42,2)	0,383
	Negativou	7(11,9)	3(9,7)	10(11,1)	
	Positivou	9(15,3)	3(9,7)	12(13,3)	
	Permaneceu negativo	16(27,1)	14(45,2)	30(33,3)	
RP	Permaneceu positivo	22(37,3)	8(25,8)	30(33,3)	0,234
	Negativou	9(15,3)	3(9,7)	12(13,3)	
	Positivou	4(6,8)	6(19,4)	10(11,1)	
	Permaneceu negativo	24(40,7)	14(45,2)	38(42,2)	
HER2	Permaneceu positivo	13(22)	5(16,1)	18(20)	0,730
	Negativou	15(25,4)	6(19,4)	21(23,3)	
	Positivou	1(1,7)	1(3,2)	2(2,2)	
	Permaneceu negativo	30(50,8)	19(61,3)	49(54,4)	
PRL	Permaneceu positivo	13(22)	7(22,6)	20(22,2)	0,871
	Negativou	14(23,7)	9(29,0)	23(25,6)	
	Positivou	4(6,8)	1(3,2)	5(5,6)	
	Permaneceu negativo	28(47,5)	14(45,2)	42(46,7)	

Os dados são apresentados com n(%)

\* teste de Qui –quadrado

Tabela 9 – Associação entre grau histológico tumoral e expressão imuno-histoquímica dos marcadores pré e pós-quimioterapia

Receptores		Grau histológico III n=40	Grau histológico I/II n=50	Total	P*
RE	Permaneceu positivo	15(37,5)	23(46,0)	38(42,2)	0,551
	Negativou	4(10,0)	6(12,0)	10(11,1)	0,795
	Positivou	2(5,0)	10(20,0)	12(13,3)	0,077
	Permaneceu negativo	19(47,5)	11(22,0)	30(33,3)	0,020
RP	Permaneceu positivo	12(30,0)	18(36,0)	30(33,3)	0,583
	Negativou	4(10,0)	8(16,0)	12(13,3)	
	Positivou	4(10,0)	6(12,0)	10(11,1)	
	Permaneceu negativo	20(50,0)	18(36,0)	38(42,2)	
HER2	Permaneceu positivo	7(17,5)	11(22,0)	18(20)	0,565
	Negativou	10(25,0)	11(22,0)	21(23,3)	
	Positivou	-	2(4,0)	2(2,2)	
	Permaneceu negativo	23(57,5)	26(52,0)	49(54,4)	
PRL	Permaneceu positivo	6(15,0)	14(28,0)	20(22,2)	0,377
	Negativou	13(32,5)	10(20,0)	23(25,6)	
	Positivou	2(5,0)	3(6,0)	5(5,6)	
	Permaneceu negativo	19(47,5)	23(46,0)	42(46,7)	

Os dados são apresentados com n(%)

\* teste de Qui –quadrado

Tabela 10 – Associação da expressão de prolactina com os subtipos moleculares e a resposta patológica tumoral

Receptores	Expressão de prolactina	Resposta positiva n(%)	n	P*
<b>HER2-neu</b>	Positiva	6(54,5)	11	0,999
	Negativa	3(50)	6	
<b>Luminal</b>	Positiva	8(53,3)	15	0,638
	Negativa	9(69,2)	13	
<b>Triplo negativo</b>	Positiva	5(71,4)	7	0,633
	Negativa	6(50,0)	12	
<b>HER2 +/-RE +/-RP+</b>	Positiva	6(85,7)	7	0,999
	Negativa	9(90,0)	10	
<b>Outros perfis</b>	Positiva	2(66,7)	3	0,999
	Negativa	5(83,3)	6	

Os dados são apresentados com n(%)

\* teste de Qui –quadrado com correção de Yates ou teste Exato de Fisher

Tabela 11 – Associação entre grau histológico e resposta patológica tumoral

Grau histológico	Resposta positiva n(%)	n	P*
Alto grau (GIII)	22(55,0)	40	0,097
Grau intermediário ou baixo (GII/I)	37(74,0)	50	
Total	59 (100,0)	90	

Os dados são apresentados com n(%)

\* teste Exato de Fisher

Tabela 12 – Correlação entre tamanho tumoral e resposta patológica.

Características tumorais		Resposta patológica		p
		sim	não	
média		6,34	5,79	
mediana		6	5	
Desvio padrão		2,51	3,28	
Tamanho mínimo		2,2	1,5	
Tamanho máximo		15	14	
Intervalo interquartil	25	4,5	3	
	75	7,5	9	

A mediana de tamanho tumoral nos que responderam de forma positiva foi de 6,0 cm (intervalo interquartil: P25=4,5 cm a P75=7,5 cm) nos que não responderam foi de 5,0 cm (intervalo interquartil: P25=3,0 cm a P75=9,0 cm) não existindo diferença estatisticamente significativa (teste de Mann-Whitney, P=0,141).

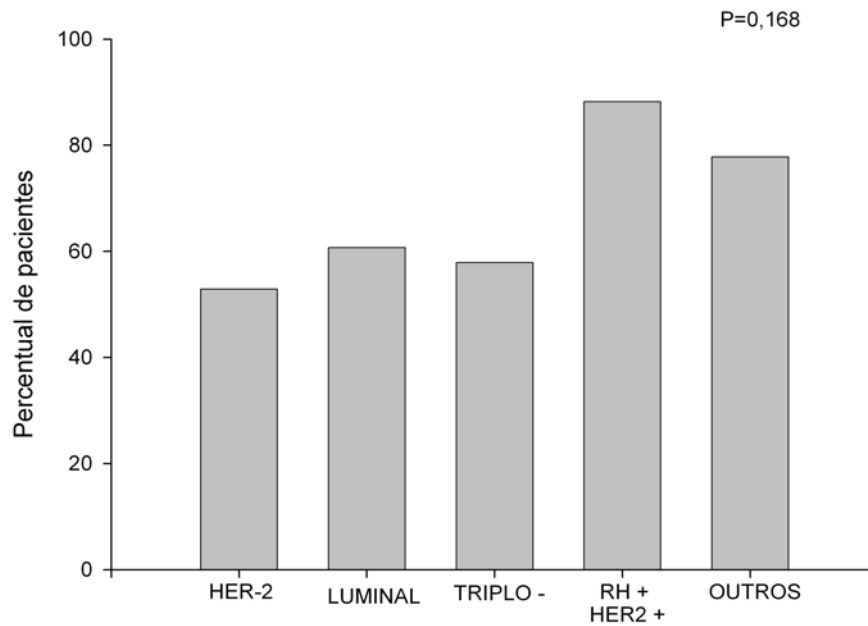


Figura 4 - Gráfico da descrição do percentual de pacientes com resposta patológica dentro dos diferentes subtipos de tumores.

A categoria outros refere-se aos casos RE negativo, RP positivo, HER2 negativo e RE negativo, RP positivo, HER2 positivo.



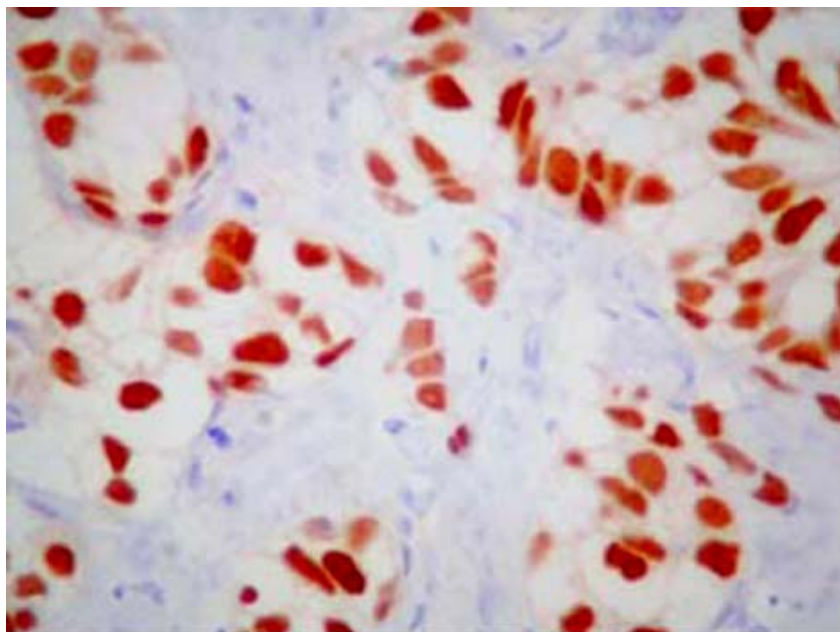


Figura 5 – Imunoexpressão nuclear do Receptor de Estrogênio positivo em >95% das células do carcinoma de mama pós-quimioterapia. (X 100)



Figura 6 – Imunoexpressão nuclear do Receptor de Estrogênio positivo em 90% das células em carcinoma de mama pré-quimioterapia (X100).

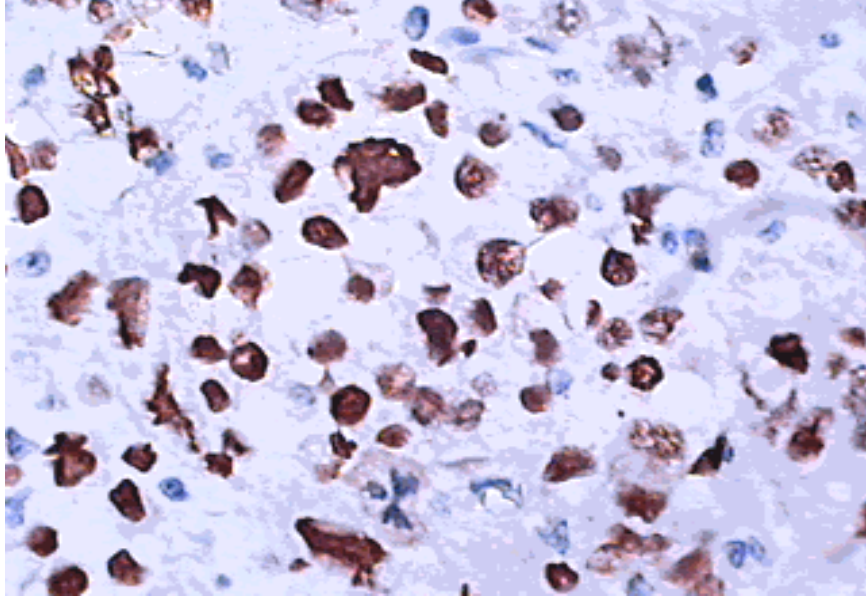


Figura 7 –  
Imunoexpressão do Receptor de Progesterona com 80% de positividade em carcinoma de mama pós-  
quimioterapia (X 100).

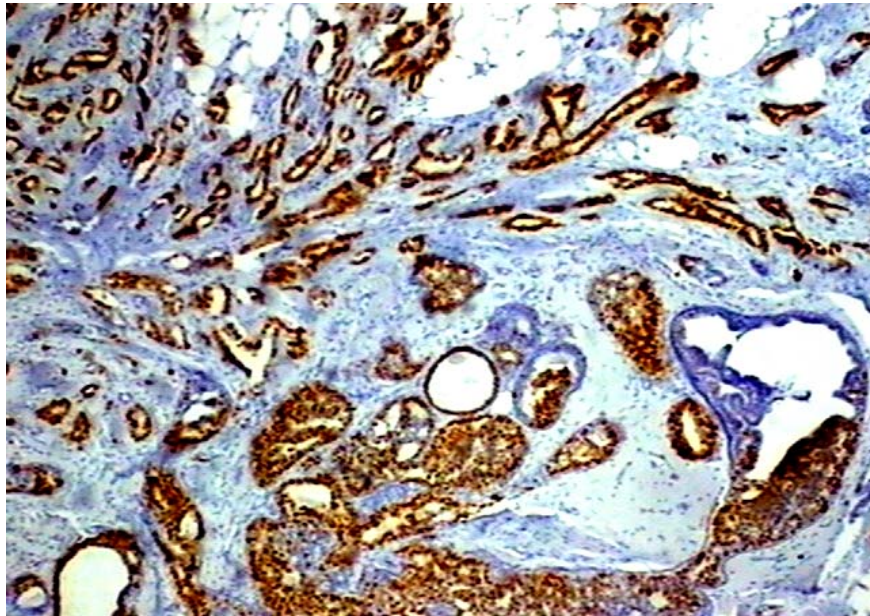


Figura 8 – Imunoexpressão do Receptor de Progesterona com >90% de positividade nuclear em carcinoma de  
mama pré-quimioterapia – tanto no componente invasor quanto no componente intraductal (X40).

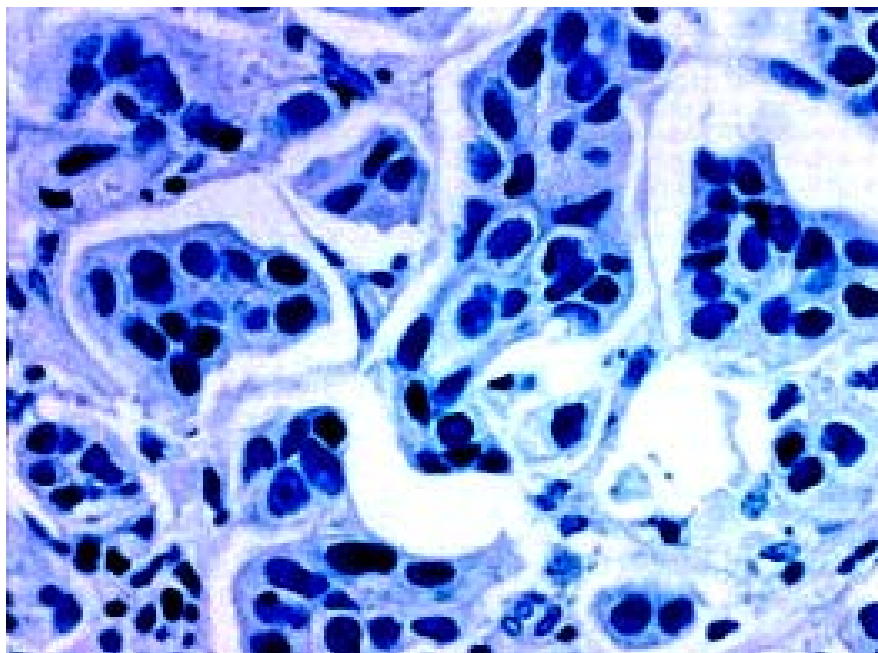


Figura 9 – Ausência de imunopositividade para receptor de prolactina em carcinoma de mama após quimioterapia (X100).

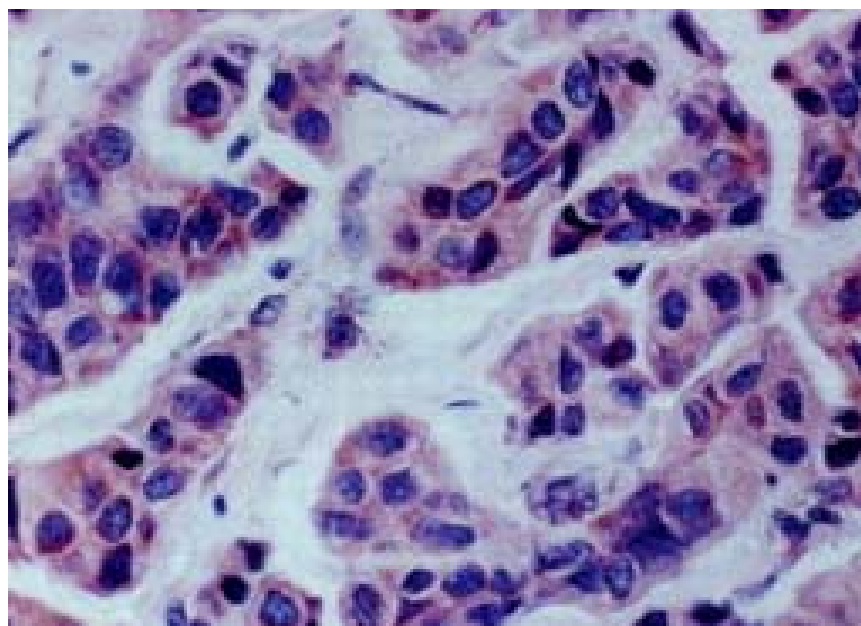


Figura 10 – Imunopositividade com coloração citoplasmática para Receptor de Prolactina em carcinoma de mama pré-quimioterapia (X100).

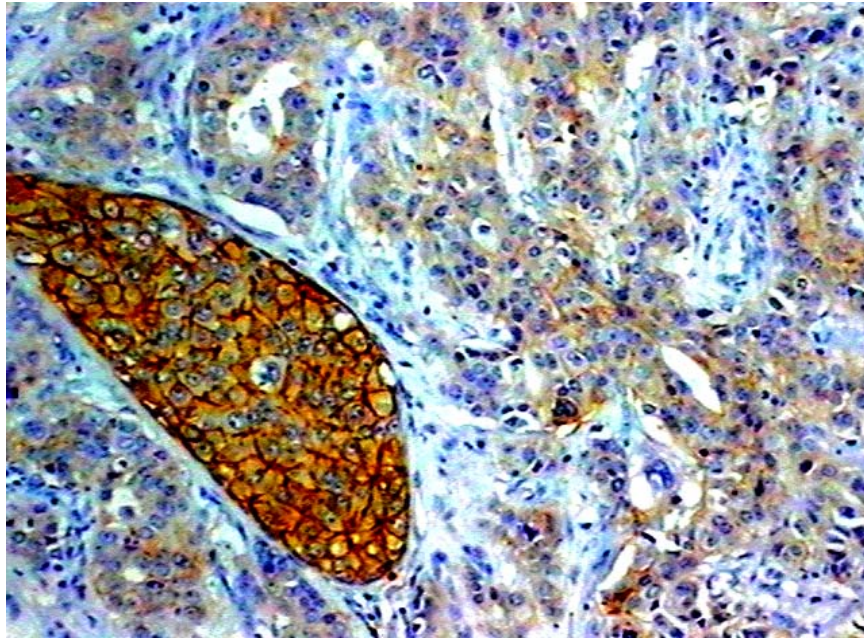


Figura 11 - Coloração negativa da membrana celular para o HER2-neu no componente invasor de carcinoma de mama e positiva escore 3 no componente intraductal, pré-quimioterapia (X40).

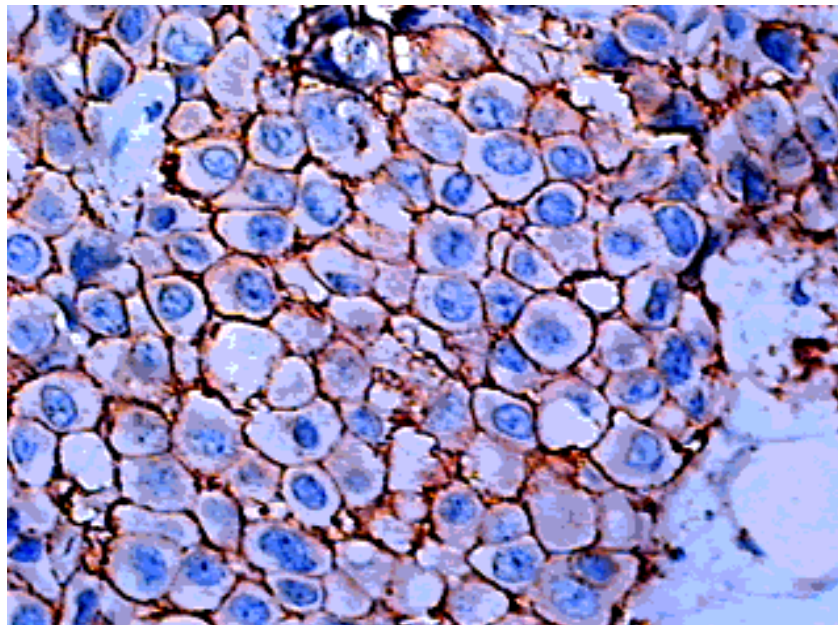


Figura 12 – Imunoexpressão de membrana do Receptor de HER2-neu 3 cruces de positividade em carcinoma de mama pós-quimioterapia (X100).

# 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](#)