

Análise dos marcadores imuno-histoquímicos associados com câncer de mama em mulheres na Região das Missões, Rio Grande do Sul, Brasil

Analysis of immunohistochemical markers associated with breast cancer in women in the Region of Missions, Rio Grande do Sul, Brazil

Caroline Portela Peruzzi¹, Vera Regina Medeiros Andrade¹

Descritores

Neoplasias da mama
Imuno-histoquímica
Receptores de progesterona
Receptores estrogênicos
Antígeno Ki-67

Keywords

Breast neoplasms
Immunohistochemistry
Receptors, Progesterone
Receptors, Estrogen
Ki-67 Antigen

RESUMO

Objetivos: Analisar a distribuição dos subtipos moleculares de câncer de mama e correlacionar esses subtipos com o perfil etário e histológico. **Métodos:** Trata-se de um estudo observacional, descritivo e retrospectivo. Foram incluídas 110 mulheres com diagnóstico histológico de câncer de mama e análise imuno-histoquímica no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2015. Com base nos laudos imuno-histoquímicos, foram definidos quatro subtipos moleculares: luminal A, luminal B, HER-2+ e triplo negativo. Foi realizada análise estatística para correlacionar subtipos moleculares e tipo histológico e idade. **Resultados:** A idade média das participantes do estudo foi de 56,9 anos (DP=15,15), apresentando pico na faixa etária acima dos 50 anos. O tipo histológico mais frequente (66,4%) foi o carcinoma ductal invasivo (CDI). Quanto à classificação molecular, o luminal B foi o mais frequente, representando 43,6% dos casos. **Conclusão:** Com base nos marcadores moleculares, os carcinomas da mama foram classificados em quatro subtipos e não apresentaram diferença significativa em relação ao tipo histológico nem à idade.

ABSTRACT

Objectives: To analyze the molecular subtype's breast cancer distribution and correlate them with age and histological profile. **Methods:** An observational, descriptive and retrospective study. One hundred and ten women with histological diagnosis of breast cancer and immunohistochemistry analysis, from January 2013 to December 2015, were included. From the reports, four molecular subtypes were defined: luminal A, luminal B, HER-2+ and triple negative. Correlations between molecular subtypes and histologic type and age were evaluated statistically. **Results:** The average age of the participants of the investigation was 56.9 years (SD=15.15), with a peak in the age group over 50 years. The most common histological type (66.4%) was invasive ductal carcinoma (IDC). The luminal B was the most frequent molecular subtype, representing 43.6% of cases. **Conclusions:** Based on molecular markers, the breast carcinomas were classified into four subtypes and showed neither significant difference regarding histologic type nor age.

Introdução

O câncer de mama é comumente relatado no mundo, sendo a segunda principal causa de incidência e mortalidade entre as mulheres, com estimativa de 1,67 milhões de novos casos diagnosticados em 2012 (25% de todos os cânceres)¹. No Brasil, para o ano de 2016 foram estimados 57.960 casos novos de câncer de mama, com risco estimado de 56,20 casos a cada 100 mil mulheres. Sem considerar os tumores de pele não melanoma, esse tipo de câncer é o primeiro mais frequente nas mulheres da Região Sul (74,30/100 mil); só no Rio Grande do Sul, foram estimados 5.210 novos casos para o ano de 2016².

O risco de desenvolver o câncer de mama, como toda doença multifatorial, é determinado por uma interação complexa de fatores genéticos e ambientais. Entre os fatores de risco se encontram: fatores endócrinos ou relativo à história reprodutiva como menarca precoce, menopausa tardia, nuliparidade e primeira gravidez após os 30 anos de idade, uso de contraceptivos orais e terapia de reposição hormonal por tempo prolongado; fatores relacionados a comportamento ou ambiente como obesidade, tabagismo, consumo excessivo de álcool, exposição à radiação ionizante; e fatores genéticos/hereditários como mutações em determinados genes como o BRCA1 e BRCA2^{3,4}.

O câncer mamário é uma doença complexa que possui diferenças histológicas e moleculares respondendo a terapias e prognósticos diferentes. O mais frequente dos tumores malignos de mama é o do tecido epitelial, representando de 70 a 80% dos carcinomas ductais e de 10 a 20% dos carcinomas lobulares⁵⁻⁷. Esse câncer tem sido classificado em subtipos moleculares com base nas alterações genéticas que estimulam a proliferação celular⁷⁻¹⁰. Entre esses marcadores moleculares estão os receptores hormonais (RH), como os receptores de estrogênio (RE) e os receptores de progesterona (RP), que são proteínas nucleares que se ligam aos hormônios circulantes, mediando seus efeitos celulares no epitélio mamário^{11,12}. Outro marcador muito importante é o receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER-2), determinado pela superexpressão ou amplificação do gene ERB-B2 (receptor tyrosine kinase 2), encontrado em 25 a 30% dos cânceres de mama^{13,14}. Ki-67 é uma proteína nuclear que é expressa nas células nas fases G1, S e G2, com pico na mitose, e está ausente quando a célula está em repouso (G0). Tem sido sugerido que a expressão elevada da proteína Ki-67 está associada a um pior prognóstico¹⁵.

De acordo com os diferentes fenótipos obtidos, o carcinoma de mama é classificado em subtipos como luminal A, luminal B, HER-2+ e triplo negativo. O luminal A está associado a um melhor prognóstico e, pelo fato de os tumores apresentarem RE+, estes possuem boa resposta terapêutica com antiestrogênio^{6,10,16}. O subtipo luminal B tem maior índice de proliferação celular, o que leva a um pior prognóstico em relação aos tumores luminais A. Ele também está associado ao maior risco de recorrência e a menor sobrevida livre da doença, mostrando beneficiar-se mais

do que o subtipo luminal A de quimioterapia associada a antiestrogênicos^{10,16,17}. Portadores de carcinoma de mama HER-2+ possuem prognóstico mais reservado e estão mais propensos à recorrência frequente e precoce, porém os medicamentos trastuzumabe (anticorpo monoclonal humanizado) e lapatinib melhoraram significativamente a sobrevida e as taxas de resposta e reduzem a progressão da doença, seja utilizados isoladamente, seja associados à quimioterapia em câncer de mama metastático^{6,10,16}. Pacientes que apresentam o subtipo triplo negativo normalmente são jovens de descendência africana, possuem o pior prognóstico em comparação aos demais e não se beneficiam do uso do trastuzumabe nem de terapias hormonais^{10,16}.

Com o intuito de aprimorar o tratamento e a sobrevida de mulheres com câncer de mama, buscou-se a identificação de marcadores imuno-histoquímicos encontrados em células de câncer de mama, o que tem se demonstrado importante na tentativa de realizar um tratamento mais personalizado à individualidade de cada mulher. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivos analisar a distribuição dos subtipos moleculares de câncer de mama e correlacionar esses subtipos com o perfil etário e histológico.

Métodos

Trata-se de um estudo observacional, descritivo e retrospectivo, realizado em um laboratório de patologia, no município de Santo Ângelo, estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Foram incluídas neste estudo 110 mulheres com diagnóstico histológico de câncer de mama que realizaram o exame anatomopatológico e imuno-histoquímico no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2015. As variáveis analisadas foram a idade das mulheres e o diagnóstico histológico e imuno-histoquímico. Com base nos laudos imuno-histoquímicos, definiram-se quatro subtipos moleculares: luminal A, luminal B, HER-2+ e triplo negativo, conforme o Quadro 1. As pacientes com dados de marcadores moleculares não disponíveis foram excluídas, restando, por fim, 94 mulheres.

Por ser uma pesquisa sobre câncer de mama, doença grave que apresenta risco e desconforto emocional para as mulheres, foi solicitada ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões *Campus* de Santo Ângelo a dispensa do Termo de Consentimento Livre e

Quadro 1. Classificação molecular por imuno-histoquímica dos tumores da mama¹⁰.

Subtipo molecular	Classificação
Luminal A	RE+ e/ou RP+, HER-2- e Ki-67<14%
Luminal B	RE+ e/ou RP+, HER-2+ e Ki-67=14%
HER-2+	RE-, RP, HER-2+
Triplo negativo	RE-, RP-, HER-2-

HER-2: receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano; RE: receptor de estrogênio; RP: receptor de progesterona; Ki-67: índice de proliferação celular.

Esclarecido (TCLE), o que teve por objetivo evitar provocar lembranças e angústias às pacientes. O comitê aprovou o protocolo de pesquisa, com parecer n.º 1.384.765, em 8 de dezembro de 2015. Os dados foram plotados no programa Microsoft® Excel 2007, e foi feita análise estatística com teste χ^2 de Pearson, considerando significativo quando $p < 0,05$.

Resultados

Perfil da amostra

Entre as 110 mulheres analisadas no presente estudo, a idade média foi de 56,9 anos (DP=15,15), e as idades variaram de 22 a 92 anos. A incidência do câncer de mama apresentou pico na faixa etária acima dos 50 anos, representando 62,7% (69/110) das mulheres (Tabela 1).

O tipo histológico mais frequente foi o carcinoma ductal invasivo (CDI) (66,4%; 73/110), seguido de carcinoma mamário invasivo (19,1%; 21/110) e carcinoma lobular invasivo (6,4%; 7/110) (Tabela 2).

O perfil imuno-histoquímico do presente estudo foi definido para 94 mulheres que possuíam dados moleculares disponíveis e classificado em quatro subtipos. O luminal B (RE+ e/ou RP+, HER-2+ e Ki-67 $\geq 14\%$) foi o mais frequente, representando 43,6% (41/94) dos casos, seguido do luminal A (RE+ e/ou RP+, HER-2- e i-67 <14%), com 23,4% (22/94) (Tabela 3).

Tabela 1. Distribuição das mulheres conforme a faixa etária.

Faixa etária	n	%
≤39	8	7,3
40-49	33	30,0
≥50	69	62,7
	110	100,0

As características clínicas das mulheres, segundo os subtipos moleculares de câncer de mama, não apresentaram correlações significativas para a idade do diagnóstico nem para o tipo histológico (Tabela 4).

Discussão

A idade média das mulheres com câncer de mama do presente estudo foi de 56,9 anos, com pico na faixa etária acima dos 50 anos. Os dados de faixa etária encontrados estão de acordo com a incidência de câncer de mama no Brasil, pois este é relativamente raro antes dos 35 anos e predominante acima dos 50 anos de idade². Os dados alcançados estão em conformidade

Tabela 2. Distribuição das mulheres conforme o diagnóstico histopatológico.

Tipo histológico	n	%
Carcinoma ductal <i>in situ</i>	3	2,7
Carcinoma ductal invasivo	73	66,4
Carcinoma lobular invasivo	7	6,4
Carcinoma mamário invasivo	21	19,1
Outros carcinomas mamários	6	5,5
	110	100,0

Tabela 3. Distribuição dos subtipos moleculares de câncer de mama classificado pela imuno-histoquímica.

Classificação molecular	n	%
Luminal A	22	23,4
Luminal B	41	43,6
Tripló negativo	17	18,1
HER-2+	14	14,8
	94	100,0

Tabela 4. Correlação da idade do diagnóstico e tipo histológico com os subtipos moleculares de câncer de mama.

	Classificação molecular				Valor p*
	Luminal A % (n)	Luminal B % (n)	HER-2+ % (n)	Tripló negativo % (n)	
Faixa etária (n=94)					
≤39	1,1 (1)	3,2 (3)	2,1(2)	1,1 (1)	1,000
40-49	5,3 (5)	12,8 (12)	4,3 (4)	8,5 (8)	
≥50	17,0 (16)	27,7 (26)	8,5 (8)	8,5 (8)	
Tipo histológico (n=94)					
CDIS	0,0 (0)	2,1 (2)	1,1 (1)	0,0 (0)	0,118
CDI	11,7 (11)	26,6 (25)	10,6 (10)	16,0 (15)	
CLI	4,3 (4)	2,1 (2)	0,0 (0)	0,0 (0)	
CMI	6,4 (6)	10,6 (10)	2,1 (2)	0,0 (0)	
Outros	1,1 (1)	2,1 (2)	1,1 (1)	2,1 (2)	

CDIS: Carcinoma ductal *in situ*; CDI: carcinoma ductal invasivo; CLI: carcinoma lobular invasivo; CMI: carcinoma mamário invasivo. *Teste χ^2 .

com pesquisa realizada por Haddad, Carvalho e Novaes¹⁸, no Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE), no Rio de Janeiro, com 62 pacientes. Destas, 58% tinham idade entre 50 e 69 anos; e 9,7%, de 40 a 49 anos. Os resultados da pesquisa reafirmam a idade como fator de risco para o câncer de mama, pois o maior índice aparece na faixa etária a partir de 50 anos de idade¹⁸.

A maioria das mulheres apresentou como tipo histológico o CDI (66,4%), seguido de carcinoma mamário invasivo (19,1%) e carcinoma lobular invasivo (6,4%). Esses dados estão de acordo com a literatura: conforme o Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA)², o CDI é o tipo histológico mais comum, correspondendo de 80 a 90% do total de casos². Em uma investigação realizada por Ferreira et al.¹⁹ – com análise dos dados histológicos disponibilizados pelo Ministério da Saúde por meio do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (SUS) (Datasis) –, das neoplasias malignas da mama, no período de 2009 a 2013, verificou-se que o CDI foi o tipo mais frequente, acometendo 25.534 (60%) mulheres¹⁹. Outros estudos feitos no Brasil também mostraram predominância do tipo histológico CDI, como o de Haddad, Carvalho e Novaes¹⁸, que apresentou índice de 83,9% das mulheres, e o de Moraes et al.²⁰, que aconteceu com pacientes da região central do estado do Rio Grande do Sul atendidas no Ambulatório de Mastologia do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), no qual os tipos histológicos encontrados foram 73,4% de CDI e 6% de carcinoma lobular invasivo^{18,20}.

Nos casos analisados no presente estudo, o subtipo molecular luminal B foi o mais frequente (43,6%), seguido do luminal A (23,4%). Nossos dados estão compatíveis com os de Cintra et al.⁷, que avaliaram o perfil imuno-histoquímico de mulheres com câncer de mama em Juiz de Fora, Minas Gerais, e acharam predominância do luminal B, correspondendo a 41,8%, seguido do luminal A, com 17,1%⁷. Em estudos realizados por Barreto-Neto et al.¹⁰, foram averiguados os subtipos moleculares de carcinoma ductal da mama em pacientes de Salvador, Bahia, e também se encontrou o luminal B (59,3%) como o subtipo molecular mais comum, seguido do luminal A (18,6%), do HER-2+ (11,9%) e do triplo negativo (10,2%)¹⁰. No estudo de Santos et al.²¹ sobre os subtipos moleculares de mulheres com câncer de mama, no sudoeste paranaense, 13% das pacientes foram classificadas como luminal A, 30% como luminal B, 18% luminal B-HER-2, 17% como HER-2+ amplificado, e 13% como triplo negativo²¹. Os dados encontrados estão de acordo também com Carvalho et al.²², que analisaram a distribuição dos subtipos moleculares por região no Brasil. Os autores observaram que o subtipo luminal B (36,9%) foi o mais frequente na Região Sul, seguido do luminal A (30,8%)²².

Com relação aos índices encontrados para HER-2+ e triplo negativo, nossos dados foram diferentes dos da literatura. Embora não tenha sido abordada a raça das mulheres com câncer de mama (por falta dessa informação), sabemos da grande variabilidade étnica que compõe a população da região do estudo e, conforme a literatura^{7,10}, o subtipo triplo negativo ocorre com

mais frequência em mulheres de ascendência africana, o que pode explicar a diferença observada.

Em consonância com a literatura, Kumar et al.⁶ encontraram correlação significativa entre o grau do tumor e os subtipos moleculares. No estudo de Cintra et al.⁷, os subtipos moleculares apresentaram correlação ($p < 0,05$) com características clínicas e morfológicas do tumor, tais como tamanho, estadiamento, metástases, linfonodos e cor da pele^{6,7}. No nosso estudo, não foram observadas correlações significativas para a idade do diagnóstico nem para o tipo histológico.

Conclusões

Fundamentados nos dados do presente estudo, concluímos que a idade média das mulheres com diagnóstico histológico de câncer de mama foi de 56,9 anos, apresentando pico na faixa etária acima dos 50 anos. O tipo histológico mais frequente foi o CDI. Com base nos marcadores moleculares, classificamos em quatro subtipos os carcinomas da mama: o luminal B foi o mais frequente, seguido do luminal A — os subtipos não apresentaram diferença significativa em relação ao tipo histológico nem à idade.

O estudo apresenta algumas limitações, pelo fato de os dados terem sido obtidos de registros do laboratório, não estando disponíveis mais variáveis para serem analisadas, o que não permitiu uma correlação de dados mais detalhada. Esta pesquisa possibilitou a classificação molecular por meio dos marcadores imuno-histoquímicos, em pacientes portadoras de câncer de mama atendidas na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul. Vale lembrar, porém, que a correlação entre o diagnóstico histológico e a imuno-histoquímica pode aprimorar o tratamento e a sobrevida de mulheres com câncer de mama e, conseqüentemente, melhorar a resposta terapêutica das pacientes.

Referências

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. Globocan 2012: estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012 — IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer [cited 2016 Jun 08]. Available from: <http://globocan.iarc.fr>.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Controle do câncer de mama: conceito e magnitude [Internet]. 2016 [cited 2016 Jun 08]. Available from: http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoes_programas/site/home/nobrasil/programa_controle_cancer_mama/conceito_magnitude.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) [Internet]. MAMA. Fatores de risco. [cited 2016 Set 06]. Available from: http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/mama/fatores_de_risco_1
4. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) [Internet]. Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2014 [cited 2016 Jun 08]. Available from: <http://www.inca.gov.br/wcm/dncc/2013/apresentacao-estimativa-2014.pdf>.

5. Azambuja E. Marcadores prognósticos e preditivos e sua importância na individualização do tratamento de pacientes com câncer de mama [thesis]. Porto Alegre: Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2007.
6. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, Robbins e Cotran. *Patologia: bases patológicas das doenças*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
7. Cintra JRD, Teixeira MTB, Diniz RW, Gonçalves Junior H, Florentino TM, Freitas GF, et al. Perfil imuno-histoquímico e variáveis clinicopatológicas no câncer de mama. *Rev Assoc Med Bras*. 2012;58(2):178-87. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-42302012000200013>
8. Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(10):736-50. DOI: 10.1093/jnci/djp082.
9. Buitrago F, Uemura G, Sena MCF. Fatores prognósticos em câncer de mama. *Com Ciências Saúde*. 2011;22(Suppl 1):S69-S82.
10. Barreto-Neto NJS, Pinheiro AB, Oliveira JF, Crusóe NSDR, Bertrand SAB, Machado MCM, et al. Perfil epidemiológico dos subtipos moleculares de carcinoma ductal da mama em população de pacientes em Salvador, Bahia. *Rev Bras Mastologia*. 2014;24(4):98-102. DOI: 10.5327/Z201400040002RBM
11. Eisenberg ALA, Koifman S. Câncer de mama: marcadores tumorais (revisão de literatura). *Rev Bras Cancerol*. 2001;47(4):377-88.
12. Renoir JM, Marsaud V, Lazennec G. Estrogen receptor signaling as a target for novel breast cancer therapeutics. *Biochem Pharmacol*. 2013;85(4):449-65. DOI: 10.1016/j.bcp.2012.10.018
13. Jiang H, Rugo HS. Human epidermal growth factor receptor 2 positive (HER2+) metastatic breast cancer: how the latest results are improving therapeutic options. *Ther Adv Med Oncol*. 2015;7(6):321-39. DOI: 10.1177/1758834015599389
14. Young CD, Arteaga CL, Cook RS. Dual inhibition of Type I and Type III PI3 kinases increases tumor cell apoptosis in HER2+ breast cancers. *Breast Cancer Res*. 2015;17(1):148. DOI: 10.1186/s13058-015-0656-2
15. Wen S, Zhou W, Li C, Hu J, Hu X, Chen P, et al. Ki-67 as a prognostic marker in early-stage non-small cell lung cancer in Asian patients: a meta-analysis of published studies involving 32 studies. *BMC Cancer*. 2015;15(1):520. DOI: 10.1186/s12885-015-1524-2
16. Cirqueira MB, Moreira MAR, Soares LR, Freitas-Júnior R. Subtipos moleculares do câncer de mama. *Femina*. 2011;39(10):499-503.
17. Vieira DSC, Dufloth RM, Schmitt FCL, Zeferino LC. Carcinoma de mama: novos conceitos na classificação. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2008;30(1):42-7.
18. Haddad NC, Carvalho ACA, Novaes CO. Perfil sociodemográfico e de saúde de mulheres submetidas à cirurgia para câncer de mama. *Rev Hosp Univers Pedro Ernesto*. 2015;14(Suppl 1):28-35.
19. Ferreira PRC, Oliveira SCS, Anjos JCS, Santos ICF, Pinto JESS, Pereira RC, et al. Neoplasias malignas da mama no Brasil e sua variação espaço-temporal no período de 2009 a 2013. *Proceeding of the 1st Congresso Norte e Nordeste da Sociedade Brasileira de Cirurgia Oncológica*; 2014; São Paulo: Blucher, 2014. p. 15.
20. Moraes AB, Zanini RR, Turchiello MS, Riboldi J, Medeiros LR. Estudo da sobrevida de pacientes com câncer de mama atendidas no hospital da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2006;22(10):2219-28. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2006001000028>
21. Santos JW, Takakura ET, Schoeler NC, Cormanique TF, Panis C. Estudo do perfil molecular do câncer de mama e seu prognóstico em mulheres do sudoeste do Paraná. *Proceeding of the 1st Encontro Anual de Iniciação Científica, Tecnológica e Inovação*; 2015. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel; 2015.
22. Carvalho FM, Bacchi LM, Pincerato KM, Van de Rijn M, Bacchi CE. Geographic differences in the distribution of molecular subtypes of breast cancer in Brazil. *BMC Womens Health*. 2014;14(1):102. DOI: 10.1186/1472-6874-14-102