

PAPEL DO HER2/NEU SÉRICO COMO FACTOR PREDITIVO E DE MONITORIZAÇÃO NO CANCRO DA MAMA Sob Terapêutica com Trastuzumab

Maria do Rosário COUTO, Daniela PINTO, Júlio OLIVEIRA, Alice MONTEIRO,
Deolinda PEREIRA, Rui MEDEIROS, Helena RODRIGUES

RESUMO

Introdução: No cancro da mama, a sobreexpressão do HER2 (*Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*) está associada a um pior prognóstico em todos os estádios da doença, constituindo um alvo específico de um anticorpo monoclonal (trastuzumab). Contudo, as diferentes respostas clínicas observadas, têm motivado a procura de melhores marcadores preditivos. Níveis séricos elevados do domínio extracelular do HER2 têm sido associados ao resultado clínico final em doentes com carcinoma da mama.

Material e Métodos: Os autores propuseram-se a analisar os níveis do HER2/neu sérico em doentes com carcinoma da mama HER2 positivo, sob terapêutica com trastuzumab, em monoterapia ou em associação com outra terapêutica sistémica, em carácter adjuvante ou paliativo, de forma a avaliar a sua importância como factor de prognóstico, preditivo e de monitorização. De Março de 2007 a Maio de 2008, foram analisadas 173 amostras séricas, correspondentes a 43 doentes, colhidas no início do tratamento e, posteriormente, com uma periodicidade trimestral. Na determinação quantitativa da proteína HER2/neu no soro foi utilizado o ensaio HER2/neu ADVIA Centaur® e níveis superiores a 15 ng/mL foram definidos como elevados, de acordo com estudos prévios da literatura.

Resultados: Níveis séricos *baseline* elevados estiveram associados a uma pior sobrevivência global ($p = 0,003$). No âmbito da doença metastática, este valor basal não se relacionou, com significado estatístico, com o tipo de resposta obtida. Contudo, a diferença dos níveis do HER2/neu sérico entre a data de resposta e o valor *baseline* foi preditiva do tipo de resposta evidenciada. Quanto maior foi a diminuição do marcador, melhor foi a resposta obtida ($p = 0,001$). Este valor preditivo foi significativo logo ao terceiro mês de tratamento ($p = 0,007$), o que indica que a variação precoce do HER2/neu sérico faz prever a resposta à terapêutica com trastuzumab.

Conclusão: A implementação deste factor preditivo potencial poderá permitir uma melhor individualização do tratamento, assim como uma maior adaptação de recursos económicos.

M.R.C., J.O., A.M., D.P., H.R.:
Departamento de Oncologia
Médica. Instituto Português de
Oncologia do Porto. Porto
D.P., R.M.: Serviço de Viro-
logia/Grupo de Oncologia Mo-
lecular. Instituto Português de
Oncologia do Porto. Porto

© 2011 CELOM

SUMMARY

THE PREDICTIVE AND MONITORING VALUE OF SERUM HER2/NEU

In Breast Cancer Under Trastuzumab Therapy

Introduction: In breast cancer, the *Human Epidermal growth factor Receptor 2* (HER2) is associated with worst prognosis in all stages of the disease, and it is specifically targeted by a monoclonal antibody (trastuzumab). Nevertheless, the different response rates observed have increased the search for better predictive markers. Elevated levels of the

extracellular domain of HER2/neu in the serum have been associated with the clinical outcome of breast cancer patients.

Material and methods: The authors proposed to analyze serum HER2/neu in breast cancer patients, under treatment with trastuzumab, in monotherapy or associated with another systemic therapy, either in adjuvant or metastatic setting, in order to evaluate its role as prognostic, predictive and monitoring factor. From March 2007 to May 2008, 173 serum samples from 43 patients were analysed, corresponding to the beginning of the treatment of trastuzumab and 3/3 months afterwards. Serum HER2/neu levels were measured with ADVIA Centaur® immunoassay and levels > 15 ng/mL were defined as elevated, according to previous reports.

Results: Elevated baseline serum levels were found to be associated with a worst overall survival ($p = 0,003$). In the metastatic setting, baseline HER2/neu serum levels were not associated with response rate to trastuzumab. However, when we analyzed the variations in HER2/neu serum levels between the response evaluation date and the first measurement, we observed that patients whose serum levels declined showed significantly higher objective response compared with patients with stable or elevated serum values ($p = 0,001$). Moreover, monitoring early changes in serum levels (three months) could also predict the probability of response to trastuzumab-based treatment ($p = 0,007$).

Conclusion: The use of this predictive potential could not only focus and tailor treatment individually but also adapt to economic needs.

INTRODUÇÃO

O cancro da mama é a neoplasia mais frequente na mulher a nível mundial, tendo uma taxa de incidência mais elevada nos países industrializados^{1,2}. Em Portugal, constitui igualmente o tipo de neoplasia mais frequente neste sexo, sendo a primeira causa de morte por cancro³. Segundo a IARC (*International Agency for Research on Cancer*), estima-se que, em 2002, tenham ocorrido 4309 novos casos desta patologia, com uma taxa de incidência de 55,5 por 100000 habitantes e uma taxa de mortalidade de 17 por 100000 habitantes (ASR – *Age Standardized Rate*).

A abordagem do carcinoma da mama varia em função da idade, do estágio segundo o Sistema de Estadiamento da *American Joint Committee on Cancer* – TNM, do grau histológico, da expressão dos receptores hormonais de estrogénico e progesterona, e da amplificação/sobreexpressão de HER2. Assim, o tratamento consiste na aplicação, isolada ou combinada, de várias modalidades terapêuticas, entre as quais, a cirurgia, a radioterapia, a hormonoterapia, a imunoterapia e a quimioterapia. No que concerne a esta última, tem sido alvo de inúmeros estudos, pelo facto dos múltiplos esquemas de quimioterapia actualmente disponíveis, apresentarem taxas de eficácia bastante díspares, com grande variabilidade inter-individual na resposta e toxicidade não desprezível. Actualmente, a tecnologia dos *microarrays* está a revolucionar o conhecimento da biologia tumoral ao nível molecular, tendo sido identificados cinco subtipos de perfis genómicos, com diferentes pro-

priedades biológicas, comportamentos clínicos e respostas às terapêuticas, o que veio corroborar o conceito de que o carcinoma da mama constitui uma entidade patológica heterogénea⁴.

O *HER2* (*Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*) é um proto-oncogene localizado no cromossoma 17q21, que codifica uma glicoproteína transmembranar de 185kDa, designada por p185^{HER2} (proteína ou receptor HER2). Este receptor, expresso normalmente em epitélios de vários órgãos, é o segundo membro de uma família de quatro receptores de factores de crescimento (HER)⁵. Estes, localizados na membrana celular, são constituídos por um domínio extracelular de ligação a factores de crescimento, um domínio transmembranar lipofílico e um domínio intracelular com actividade tirosina cinase, que confere o seu papel na regulação do crescimento e desenvolvimento celulares, através de vias de sinalização, que podem resultar em apoptose, proliferação ou diferenciação celular^{6,7}.

A amplificação do gene *HER2* condiciona uma transcrição aumentada do gene e, consequentemente, sobreexpressão da proteína HER2. Isto, por sua vez, leva a uma activação constitutiva dos homodímeros de HER2, resultando num crescimento celular desregulado e em transformação neoplásica.

No carcinoma da mama, a amplificação/sobreexpressão do HER2, presente em cerca de 15-30% dos casos é, actualmente, considerada como um factor de prognóstico e preditivo e com grande importância na prática clínica⁵. Esta característica tende a estar associada à negatividade dos

receptores hormonais, à presença de gânglios linfáticos positivos e a um alto grau histológico. Estes últimos condicionam maior agressividade, maior probabilidade de recorrência, de potencial metastático e de resistência à terapêutica (nomeadamente à hormonoterapia com tamoxifeno e a certos regimes de quimioterapia), com conseqüente menor sobrevivência global^{8,9}.

A terapia existente, especificamente direccionada a este receptor, consiste num anticorpo monoclonal denominado trastuzumab, aprovado no tratamento paliativo e, mais recentemente, no tratamento adjuvante do carcinoma da mama HER2 positivo¹⁰. Pode ser administrado em monoterapia ou concomitantemente com outra terapêutica sistémica, nomeadamente quimioterapia ou hormonoterapia. Contudo, está contra-indicado o seu uso em simultâneo com antraciclinas, atendendo ao elevado risco de cardiotoxicidade.

Os métodos usados na selecção dos doentes para a terapêutica dirigida ao receptor HER2 consistem na detecção por imunohistoquímica da sobreexpressão do receptor e na demonstração da amplificação do gene *HER2* por FISH (*fluorescence in situ hybridization*) a nível do tecido tumoral¹¹, estando descritas discrepâncias entre os resultados obtidos no tecido primário e nas metástases da ordem dos sete a 20%^{12,13}. Assim, a análise do *status* do HER2 à data de progressão da doença pode ajudar a otimizar o tratamento, identificando doentes que podem beneficiar de terapêutica dirigida a este receptor. As biópsias às lesões metastáticas nem sempre são abordáveis, pelo que o estudo do HER2 por métodos não invasivos, nomeadamente a sua determinação sérica, poderá constituir uma alternativa de grande importância na prática clínica.

O domínio extracelular do receptor HER2, após sofrer clivagem proteolítica pelas metaloproteases, é libertado na corrente sanguínea assumindo o papel de antigénio circulante, denominado como HER2/neu sérico ou HER2 circulante. A presença desta proteína no soro pode ser detectada e quantificada por métodos imunoenzimáticos. Vários estudos apontam que o nível sérico desta proteína se encontra acima do limite superior da normalidade em cerca de 50-60% das doentes com carcinoma da mama metastizado⁶. Outros estudos têm sido desenvolvidos no sentido de correlacionar esta proteína como factor de prognóstico, preditivo e de monitorização da terapêutica^{6,14-18}.

Ao complementar o estudo do HER2 a nível tumoral, o doseamento seriado de HER2/neu sérico em doentes sob terapêutica sistémica poderá assumir um papel mais importante do que os marcadores tumorais clássicos (CA 15.3, CA 27.29 e CEA).

Os benefícios da avaliação sérica do HER2/neu incluem

a objectividade na sua determinação, baseada em métodos standardizados, não dependendo da variabilidade de quem o executa; ser um método não invasivo, reproduzível, e que permite um resultado quantitativo e, principalmente, fornecer uma informação em tempo real do *status* do HER2.

Com este trabalho pretendeu-se analisar os níveis do HER2/neu sérico em doentes com carcinoma da mama HER2 positivo, sob terapêutica com trastuzumab, em monoterapia ou em associação com outra terapêutica sistémica, em carácter adjuvante ou paliativo, de forma a podermos avaliar a sua importância como factor de prognóstico, preditivo e de monitorização desta terapêutica.

MATERIALE MÉTODOS

Doentes

Foram incluídos no estudo doentes com o diagnóstico de carcinoma da mama, com amplificação/sobreexpressão de HER2, submetidos a terapêutica adjuvante ou paliativa com trastuzumab, em monoterapia ou em associação com outro esquema de terapêutica sistémica. Foram recrutadas as doentes que iniciaram tratamento com trastuzumab no período compreendido entre Março e Julho de 2007, com o objectivo de garantir um *follow-up* mínimo de nove meses. Foram colhidas amostras de soro desde a data de início da terapêutica com trastuzumab (*baseline*) e a cada ciclo de tratamento, até Maio de 2008.

Considerou-se existir positividade para o HER2 nos casos com um *score* de 3+ pelo método de imunohistoquímica e nos casos com um *score* de 2+, quando a amplificação do gene *HER2* foi confirmada pelo método FISH (*Fluorescence In Situ Hybridization*), a nível do tumor primário.

Os parâmetros clínico-patológicos referentes a cada doente foram avaliados e actualizados por revisão dos respectivos processos clínicos. Os doentes foram estadiados de acordo com o Sistema de Estadiamento da *American Joint Committee on Cancer – TNM* de 2003 e a avaliação de resposta à terapêutica baseada nos critérios da *World Health Organization (WHO)*.

As amostras de sangue dos doentes foram obtidas sempre após o consentimento informado dos participantes antes da sua inclusão no estudo.

A sobrevivência global foi definida como o tempo desde a data do diagnóstico até à data da última observação/morte; a sobrevivência livre de doença como o tempo desde o primeiro tratamento com intuito curativo até à data da recidiva; a sobrevivência livre de progressão como o tempo desde o início do tratamento com trastuzumab até à data de progressão da doença e a duração de resposta

como o tempo desde a data de resposta parcial ou completa até à data de progressão.

Análise Laboratorial

As amostras de soro foram processadas imediatamente após a colheita de sangue e congeladas a -80°C até à sua utilização para o doseamento do HER2/neu sérico.

Por gestão de recursos económicos, foi decidido analisar as amostras do início do tratamento, trimestral e à data de recidiva ou de progressão, se aplicáveis.

Na determinação quantitativa da proteína HER2/neu no soro foi utilizado o ensaio HER2/neu ADVIA Centaur®. Trata-se de um imunoensaio do tipo sanduíche, totalmente automático que utiliza a tecnologia directa, quimioluminométrica. O reagente fluorescente é composto pelo anticorpo monoclonal, TA-1 marcado com éster de acridínio. O reagente conjugado de fluoresceína é composto pelo anticorpo monoclonal, NB-3, marcado com fluoresceína. Estes dois anticorpos são específicos para epítomos únicos no domínio extra-celular do HER2/neu, sendo que existe uma relação directa entre a quantidade de HER2/neu sérico e a quantidade de unidades de luz relativa (RLUs) detectadas no sistema¹⁹.

Da análise dos vários estudos publicados na literatura, constatou-se que a maioria dos autores referencia 15 ng/mL como sendo o valor a partir do qual se considera haver aumento do nível sérico de HER2/neu^{16-18,20-23}. Como tal, no presente estudo foi adoptado este mesmo valor de *cut-off*.

No manuseamento e armazenamento das amostras de sangue foram seguidas as recomendações gerais do *National Committee for Clinical Laboratory Standards*.

Análise Estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando o programa estatístico SPSS (Versão 15.0, SPSS Inc.).

A análise pelo teste de *Qui-Quadrado* (χ^2) foi utilizada para comparação das variáveis categóricas. O valor de *p* foi obtido pelo teste de χ^2 , ou pelo teste de *Fisher* quando o número de indivíduos considerados (*n*) foi inferior a cinco, e foi considerado estatisticamente significativo quando inferior a 0.05.

Para as variáveis contínuas, as médias foram comparadas através do teste de *T-Student* (análise de dois subgrupos) ou o teste ANOVA (análise de vários subgrupos).

A sobrevivência global, a sobrevivência livre de doença, a sobrevivência livre de progressão e a duração de resposta foram estimadas pelo método *Kaplan-Meier*. As diferenças destes valores em relação aos valores de HER2/neu sérico foram calculadas pelo teste de *Log-rank*.

RESULTADOS

Descrição da amostra

Foram incluídas 43 doentes, com carcinoma da mama, do sexo feminino, com uma idade mediana à data de diagnóstico de 49 anos (idade média de 49 anos, entre 26 a 86 anos), tendo sido analisadas no total 173 amostras de soro (cerca de quatro amostras/doente).

No quadro 1 estão descritas as características clínico-patológicas à data de diagnóstico, assim como os dados referentes ao primeiro tratamento efectuado.

Quadro 1 – Características clínico-patológicas à data de diagnóstico e dados referentes ao primeiro tratamento efectuado

Características	N.º de dts (n = 43)	%
Status hormonal		
Pré-menopausa	21	48,8
Pós-menopausa	22	51,2
Estádio		
0	1	2,3
I	7	16,3
II	14	32,6
III	20	46,5
IV	1	2,3
Tipo histológico		
Ductal invasor	37	86
Lobular invasor	1	2,3
Micropapilar invasor	1	2,3
Misto	3	7,0
CDIS	1	2,3
Grau histológico		
G1	1	2,3
G2	16	37,2
G3	25	58,1
Indeterminado*	1	2,3
Permeação presente		
Vascular	11	26,8
Linfática	22	55

Quadro 1 cont.

Características	N.º de dts (n = 43)	%
Receptores de estrogéneo		
Positivos	23	53,5
Negativos	19	44,2
Indeterminado*	1	2,3
Receptores de progesterona		
Positivos	20	46,5
Negativos	22	51,2
Indeterminado*	1	2,3
Determinação do HER2		
IHQ 3+	31	72,1
IHQ 2+ e FISH +	12	27,9
Primeiro tratamento		
Cirurgia	38	88,4
QT primária	5	11,6
Tratamento adjuvante		
QT	40	93
QT com antraciclínas	36	83,7
Hormonoterapia	25	58,1
Radioterapia	34	79,1

CDIS: carcinoma ductal in situ; IHQ: imunohistoquímica; QT: quimioterapia

* no caso CDIS não foram avaliados o grau histológico, os receptores de estrogéneo e de progesterona

Em 29 doentes a terapêutica com trastuzumab foi administrada com carácter adjuvante e, em 14 doentes, como tratamento paliativo. A maioria destes tratamentos foi administrada com uma periodicidade trissemanal (88,4%). Duas doentes suspenderam o tratamento por cardiotoxicidade.

Nas doentes com doença metastática (14), o trastuzumab associado a outra terapêutica sistémica constituiu primeira linha de tratamento paliativo em sete casos (50%), segunda em seis (42,9%) e quarta linha numa doente (7,1%). Quatro doentes (30,8%) tinham sido submetidas a tratamento prévio com antraciclínas com carácter paliativo. O local dominante de metastização foi visceral em 38,50% dos casos, loco-regional em 30,75% e osso em 30,75%,

sendo que na maioria dos casos (64,3%) o local de metastização era único.

Relação do valor *baseline* do HER2/neu sérico com os parâmetros clínico-patológicos à data do diagnóstico

Foi possível obter os níveis *baseline* do HER2/neu sérico em 39 doentes, com um valor médio de 24,2 ng/mL (entre 5,9 e 350 ng/mL). Nas doentes cujo tratamento foi adjuvante, este valor teve uma média de 11,18 ng/mL (entre 7,6 e 16,5 ng/mL) e, nos casos com intuito paliativo, uma média de 63,32 ng/mL (entre 6,9 e 350 ng/mL) ($p = 0.034$).

As características clínico-patológicas destas doentes à data do diagnóstico, de acordo com o intuito do tratamento com trastuzumab e com o valor de HER2/neu sérico *baseline* ($<$ ou \geq 15 ng/mL) estão descritas no quadro 2. De referir que não se encontraram diferenças estatisticamente significativas para nenhuma das variáveis analisadas.

Relação do valor *baseline* do HER2/neu sérico com a sobrevivência global

A sobrevivência global (SG) média foi de 136,19 meses (11,35 anos). Na figura 1 apresentam-se as curvas de sobrevivência global pelo método de *Kaplan-Meier*, tendo em conta o valor *baseline* do HER2/neu sérico. Através do teste *Log Rank* verificou-se uma associação estatisticamente significativa entre o valor *baseline* de HER2 e a SG, sendo que valores elevados de HER2 parecem conferir pior sobrevivência global ($<$ 15 ng/mL: 160 meses, \geq 15 ng/mL: 60,62 meses; $p = 0,003$). Constatou-se, ainda, que 75% das doentes que faleceram tinham valores séricos aumentados, enquanto que das doentes vivas apenas 14,3% apresentavam este valor aumentado ($p = 0,02$).

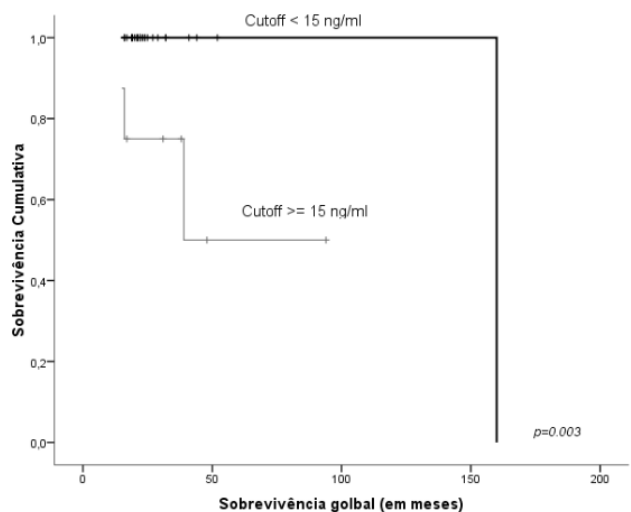


Fig. 1 – Sobrevivência global, de acordo com os níveis de HER2/neu sérico *baseline*.

Quadro 2 – Características clínico-patológicas à data do diagnóstico, de acordo com o intuito do tratamento com trastuzumab e com o valor de HER2/neu sérico baseline

Características	Trastuzumab adjuvante				Trastuzumab paliativo			
	HER2/neu sérico < 15ng/mL		HER2/neu sérico ≥ 15ng/mL		HER2/neu sérico <15ng/mL		HER2/neu sérico ≥ 15ng/mL	
	N.º (n = 25)	%	N.º (n = 1)	%	N.º (n = 6)	%	N.º (n = 7)	%
Idade (anos)								
< 49	12	100	0	0	4	57,1	3	42,9
≥ 49	13	92,9	1	7,1	2	33,3	4	66,7
Status hormonal								
Pré-menopausa	10	100	0	0	4	44,4	5	55,6
Pós-menopausa	15	93,8	1	6,3	2	50,0	2	50,0
Estádio								
≤ II	13	92,9	1	7,1	4	66,7	2	33,3
> II	12	100	0	0	2	28,6	5	71,4
Tipo histológico								
Ductal invasor	22	95,7	1	4,3	4	40,0	6	60,0
Outros	3	100	0	0	2	66,7	1	33,3
Grau histológico								
G ≤ 2	10	100	0	0	3	60,0	2	40,0
G3	15	93,8	1	6,3	2	28,6	5	71,4
RE								
Positivos	14	100	0	0	4	57,1	3	42,9
Negativos	11	91,7	1	8,3	1	20,0	4	80,0
RP								
Positivos	13	100	0	0	4	80,0	1	20,0
Negativos	12	92,3	1	7,7	1	14,3	6	85,7
Permeação vascular								
Presente	5	100	0	0	1	25,0	3	75,0
Ausente	20	95,2	1	4,8	4	57,1	3	42,9
Permeação linfática								
Presente	12	92,3	1	7,7	1	20,0	4	80,0
Ausente	12	100	0	0	4	66,7	2	33,3

RE: receptores de estrogéneo; RP: receptores de progesterona.

Todas as doentes submetidas a tratamento adjuvante com trastuzumab encontram-se vivas, pelo que não foi possível analisar as curvas de SG deste subgrupo. Apenas uma destas doentes recidivou, não evidenciando aumento do HER2/neu *baseline*.

Nas doentes com doença metastática, a SG média foi de 120,70 meses, sendo de 58,48 meses e de 160 meses nos casos com HER2/neu *baseline* ≥ 15 ng/mL e < 15 ng/mL, respectivamente ($p = 0,091$).

HER2/neu sérico como factor preditivo de resposta à terapêutica paliativa com trastuzumab

Foi avaliada a melhor resposta obtida ao tratamento paliativo com trastuzumab associado a outra terapêutica sistémica, tendo-se observado um caso (7,7%) de resposta completa, sete (53,8%) de resposta parcial, três (23,1%) de doença estável e dois (15,4%) de progressão de doença. Não se constataram diferenças estatisticamente significativas nos subgrupos de valores *baseline* HER2/neu sérico.

A sobrevivência livre de progressão foi de 47,66 semanas, sendo semelhante nos dois subgrupos de valores *baseline* de HER2/neu sérico. Para a avaliação da duração da resposta, foram considerados os casos nos quais se tinha constatado resposta parcial/completa (oito casos). Verificou-se um tempo de duração de resposta à terapêutica muito maior no grupo de doentes com valores *baseline* < 15 ng/mL (81 vs 35 semanas), embora não se tenha demonstrado estatisticamente significativo ($p = 0,09$). Quadro 3.

Ao determinar a diferença média dos níveis de HER2/neu sérico entre a data de resposta e o valor *baseline*, verificou-se, com uma diferença estatisticamente significativa ($p = 0,001$), que quanto melhor foi a resposta obtida, maior foi a diminuição dos valores do marcador. De realçar que esta diferença foi já significativa quando a variação do HER2/neu sérico foi calculada ao terceiro mês de tratamento ($p = 0,007$). Quadro 4.

Quadro 4 – Correlação entre a variação dos valores de HER2/neu sérico à data de resposta e ao 3º mês de terapêutica, com o tipo de resposta obtida

	Diferença média 1*	Diferença média 2**
Resposta completa	-58,9 ng/mL	-57,1 ng/mL
Resposta parcial	-3,9 ng/mL	-7,52 ng/mL
Doença estável	+9,6 ng/mL	+2,9 ng/mL
<i>p</i>	0,001	0,007

*Diferença média 1: diferença média dos níveis do HER2/neu sérico entre a data de resposta e o valor *baseline*

**Diferença média 2: diferença média dos níveis do HER2/neu sérico entre o 3º mês de terapêutica com trastuzumab e o valor *baseline*

HER2/neu sérico como factor de monitorização durante a terapêutica com trastuzumab:

Doentes submetidas a tratamento adjuvante

A variação do HER2/neu sérico ao longo do tratamento com trastuzumab administrado com intuito adjuvante encontra-se evidenciada na figura 2. Como se pode constatar, os valores mantiveram-se relativamente estáveis ao longo dos 12 meses desta terapêutica, não ultrapassando um máximo de 20,4 ng/mL. Apenas uma doente iniciou o referido tratamento com valor ligeiramente superior a 15 ng/mL (16,5 ng/mL). Das 29 doentes, constatou-se uma única recidiva numa doente que tinha terminado o trastuzumab há 17 dias, apresentando um HER2/neu sérico àquela data de 11 ng/mL.

Doentes submetidas a tratamento paliativo

Na figura 3 encontram-se representadas as alterações dos níveis de HER2/neu sérico ao longo do tratamento paliativo com trastuzumab. Como se pode verificar, e em contraste com as doentes submetidas a tratamento adjuvante, houve uma variação acentuada dos valores deste marcador sérico.

Quadro 3 – Sobrevivência livre de progressão e duração de resposta ao tratamento paliativo com trastuzumab, de acordo com o valor de HER2/neu sérico *baseline*.

HER2/neu sérico	N.º dts	Sobrevivência livre de progressão (semanas)	N.º dts	Duração da resposta (semanas)
Total	13	47,66*	8	61,46**
< 15 ng/mL	6	46,83	4	81,00
≥ 15 ng/mL	7	44,94	4	35,25

* $p=0,74$; ** $p=0,09$

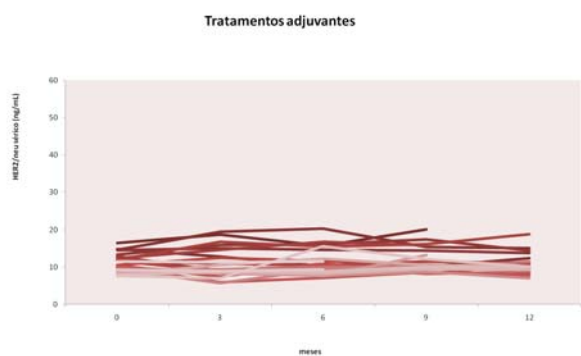


Fig. 2 – Variação temporal dos níveis do HER2/neu sérico nas doentes submetidas a tratamento adjuvante com trastuzumab

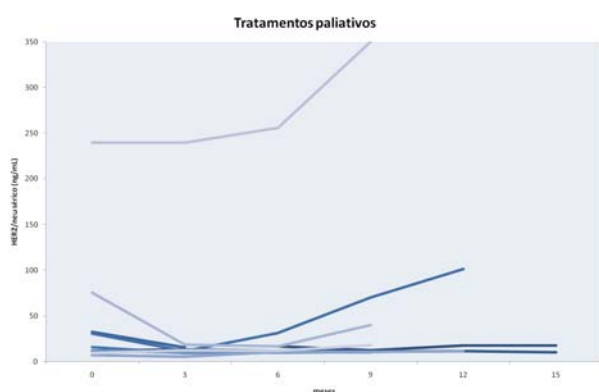


Fig. 3 – Variação temporal dos níveis do HER2/neu sérico nas doentes submetidas a tratamento paliativo com trastuzumab.

Com o objectivo de exemplificar e correlacionar, a título individual, a variação temporal dos níveis de HER2/neu sérico com as respectivas respostas à terapêutica, são representados graficamente quatro casos clínicos. Nos casos 1 e 2 salienta-se a subida precoce do valor do HER2/neu sérico em relação à evidência clínica de progressão da doença. No caso três, caso particular de valor *baseline* muito elevado, foi considerado haver doença estável, observando-se contudo um aumento do HER2/neu sérico, que precedeu o falecimento da doente. O caso quatro é exemplo de uma resposta parcial, na qual os níveis estáveis do HER2/neu sérico são concordantes com a ausência de progressão de doença.

DISCUSSÃO

Os benefícios da utilização do trastuzumab estão amplamente comprovados, integrando o tratamento *standard* dos doentes com carcinoma da mama HER2 positivos. Contudo, trata-se de uma terapêutica com elevados cus-

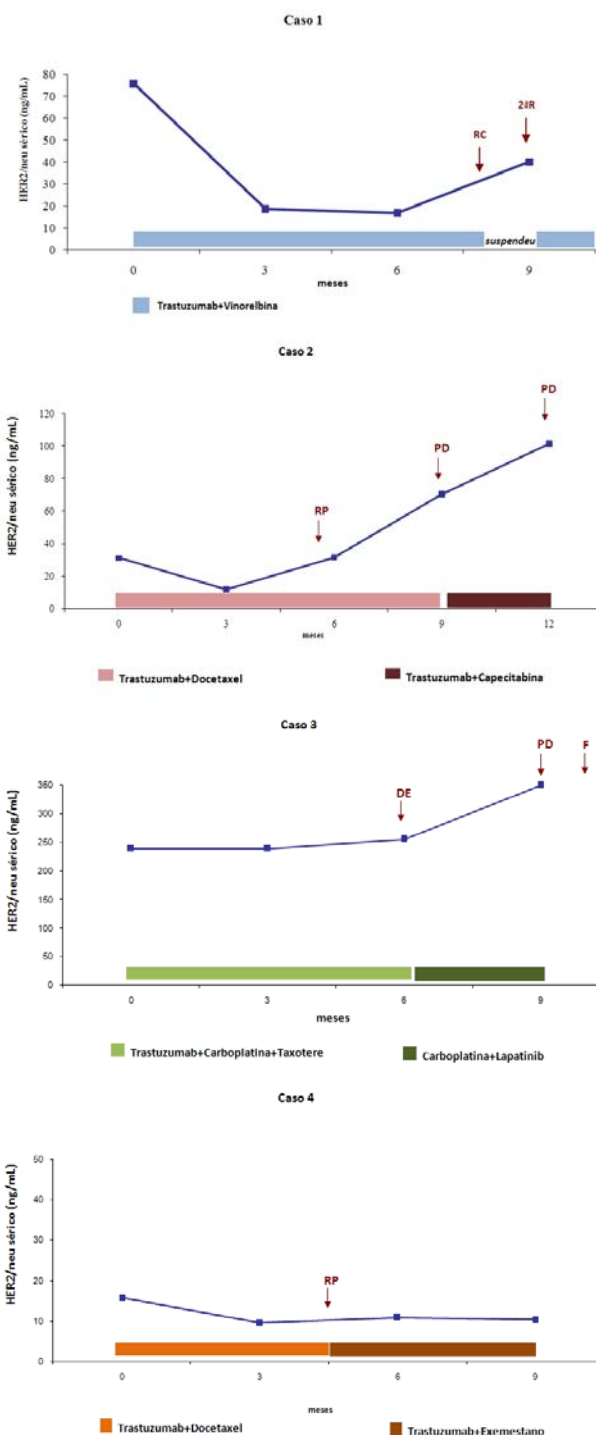


Fig. 4 – Quatro casos clínicos exemplificando a variação temporal dos níveis do HER2/neu sérico ao longo do tratamento com trastuzumab e respectivas respostas clínicas obtidas. Salienta-se o aumento precoce dos níveis do marcador antes de uma 2ª recidiva (caso 1), de uma progressão/morte (casos 2 e 3), assim como a sua estabilidade na ausência de evidência clínica de progressão (caso 4). F: falecimento; DE: doença estável; RC: resposta completa; RP: resposta parcial; 2°R: segunda recidiva; PD: progressão de doença.

tos, pelo que a investigação de metodologias que permitam monitorizar e aferir precocemente a resposta a este tipo de tratamento representará para os oncologistas um instrumento fundamental para uma melhor afectação de recursos e para a obtenção de maiores ganhos terapêuticos.

Este estudo demonstrou uma diferença estatisticamente significativa do valor do HER2/neu sérico *baseline* entre o grupo de doentes tratadas com intuito adjuvante *versus* paliativo (11,18 vs 63,32 ng/mL; $p = 0,034$), sendo que o valor mais elevado verificado no segundo grupo está de acordo com a presença de actividade da doença.

Realça-se que à data de diagnóstico, a maior percentagem das doentes submetidas a tratamento paliativo, com HER2/neu sérico *baseline* ≥ 15 ng/mL, apresentava características clinico-patológicas associadas a pior prognóstico (estádio $> II$, grau histológico 3, receptores de estrogénio e de progesterona negativos, permeação linfo-vascular presente), apesar da diferença não ter sido estatisticamente significativa.

Neste estudo, níveis elevados de HER2/neu sérico *baseline* estiveram associados a uma menor sobrevivência global (60,62 vs 160 meses; $p = 0,003$). Tal parece conferir a este marcador valor como factor de prognóstico, corroborando os vários estudos existentes na literatura^{15,21,24}. Nas doentes com doença metastática esta análise não mostrou significado estatístico, mas revelou uma sobrevivência global tendencialmente maior nos casos com valores baixos de HER2/neu sérico *baseline* (58,48 vs 160,00 meses; $p = 0,091$). A reduzida amostra ainda disponível limitou o poder da inferência estatística.

O valor *baseline* do HER2/neu sérico não foi factor preditivo de resposta, no entanto, a análise da evolução temporal deste marcador aponta para resultados promissores, à semelhança de outros estudos já publicados^{16,17}. A diferença dos níveis do HER2/neu sérico entre a data de resposta e o valor *baseline* foi preditivo do tipo de resposta evidenciada. Quanto maior foi a diminuição do marcador, melhor foi a resposta obtida ($p = 0,001$). Este valor preditivo foi significativo logo ao terceiro mês de tratamento, o que indica que a variação precoce do HER2/neu sérico faz prever a resposta à terapêutica com trastuzumab. Esteva et al demonstraram que a variação entre os níveis *baseline* e as 2-4 semanas de terapêutica fez prever o tipo de resposta alcançada, assim como foi evidenciado por Köstler et al ao fim do 15º dia de tratamento.

Estudos que avaliaram este marcador em doentes com cancro da mama metastizado não tratados com o trastuzumab concluíram que valores *baseline* elevados estão associados a uma menor resposta à referida terapêutica. No entanto, o papel preditivo do HER2/neu sérico nos

casos sob terapêutica com trastuzumab ainda não se encontra totalmente esclarecido.

Neste estudo verificou-se que nos casos nos quais se constatou haver clinicamente doença estável, os níveis de HER2/neu sérico aumentaram ligeiramente (2,9 e 9,6 ng/mL ao terceiro mês e à data de resposta, respectivamente, quadro 4), precedendo progressão/recidiva da doença. Tal achado também foi constatado noutros estudos⁶, favorecendo a hipótese de haver progressão bioquímica precoce, antes da progressão morfológica determinada por métodos de re-estadiamento *standard*, baseados no exame objectivo e exames imagiológicos. A favor desta progressão bioquímica precoce, temos os exemplos dos casos 1 a 3 representados graficamente (figura 4). Precedendo a evidência clínica de progressão da doença, já o HER2/neu sérico se encontrava em subida, quando clinicamente foi constatada resposta completa, resposta parcial e doença estável nos casos 1, 2 e 3, respectivamente.

No grupo de doentes em tratamento com intenção adjuvante, o valor de HER2/neu sérico manteve-se estável, tal como seria previsto. Ocorreu uma única recidiva sem correspondente elevação do HER2/neu sérico, no entanto, essa doente apresentava vários factores de mau prognóstico, tratando-se de um estágio III (com 16 gânglios metastizados), com negatividade para os receptores hormonais e carcinoma pouco diferenciado (grau 3). Salienta-se que o *follow-up* destas doentes é ainda reduzido (22 meses), pelo que o seguimento deste grupo se impõe para melhor esclarecer o valor prognóstico deste marcador.

De notar que, uma amostragem maior e um tempo de *follow-up* mais prolongado poderão contribuir para a obtenção de resultados mais consistentes e com maior poder estatístico.

Não foram encontrados pelos autores trabalhos semelhantes publicados na literatura, sendo este o primeiro estudo a avaliar o HER2/neu sérico em doentes sob tratamento adjuvante e paliativo com trastuzumab por cancro da mama HER2 positivo.

A implementação desta nova metodologia na prática clínica poderá trazer benefícios a dois níveis. Ao identificar precocemente o tipo de resposta ao tratamento, permite reequacionar novas abordagens terapêuticas, obtendo o doente maiores ganhos em saúde. Do ponto de vista económico, a interrupção do trastuzumab em fases mais precoces, sempre que se verifique progressão bioquímica pela monitorização do HER2 circulante, evita que se utilizem recursos dispendiosos sem a obtenção de qualquer benefício adicional. Estes recursos poderão ser canalizados para outros tratamentos inovadores, alguns deles ainda em investigação, mas com resultados promissores de acordo com a evidência científica já demonstrada. A ges-

tão financeira em saúde, particularmente em Oncologia onde os avanços têm sido primordiais para o melhor tratamento destes doentes, mas altamente consumidores de recursos, é essencial para se otimizar a relação custo-benefício das actuais terapêuticas.

CONCLUSÕES

Neste estudo demonstrou-se que a variação temporal do HER2/neu sérico foi factor preditivo de resposta ao tratamento com trastuzumab, sendo significativo quando esta variação foi avaliada logo ao terceiro mês de terapêutica. Constatou-se, ainda, que a progressão bioquímica precoce deste marcador pode antever uma progressão morfológica determinada clinicamente. Níveis elevados de HER2/neu sérico *baseline* encontraram-se associados a uma menor sobrevivência global. No âmbito da doença metastática, este valor basal não se relacionou, com significado estatístico, com o tipo de resposta obtida, sobrevivência livre de progressão ou duração de resposta. Estes dados preliminares apontam para a relevância da introdução do HER2/neu sérico na prática clínica, exigindo no entanto a sustentação dessa evidência em estudos prospectivos e com maior dimensão amostral.

Conflito de interesses:

Os autores declaram não ter nenhum conflito de interesses relativamente ao presente artigo.

Fontes de financiamento:

O ensaio HER2/neu ADVIA Centaur® utilizado para doseamento das amostras sanguíneas foi gentilmente cedido pela Siemens.

BIBLIOGRAFIA

1. STEWART BM, KLEIHUES P: World Cancer Report. IARC Press, Lyon 2003
2. BASELGA J, NORTON L: Focus on breast cancer. *Cancer Cell* 2002;1:319-322
3. PINHEIRO PS, TYCZYNSKI JE, AMADO J et al: Cancer incidence and mortality in Portugal. *Eur J Cancer* 2003;39:2507-20
4. SORLIE T, PEROU CM, TIBSHIRANI R et al: Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci* 2001;98:10869-74
5. COUSSENS L, YANG-FENG TL, LIOA YC et al: Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985;230: 1132-9
6. LÜFTNER D, HENSCHKE P, FLATH B et al: Serum HER2/neu as a prediction and monitoring parameter in a phase II study with weekly paclitaxel in metastatic breast cancer. *Anticancer Res* 2004;24:895-906
7. LÜFTNER D, LÜKE C, POSSINGER K et al: Serum HER2/neu in the management of breast cancer patients. *Clin Biochem* 2003;36:233-240
8. MOLITERNI A, MENARD S, VALAGUSSA P et al: HER2 overexpression and doxorubicin in adjuvant chemotherapy for resectable breast cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:458-462
9. KONECNY G, PAULETTI G, PEGRAM M et al: Quantitative association between HER-2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor-positive primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:142-153
10. VIANI GA, AFONSO SL, STEFANO EJ et al: Adjuvant trastuzumab in the treatment of HER-2-positive early breast cancer: a meta-analysis of published randomized trials. *BMC Cancer* 2007;7:153
11. WOLFF AC, HAMMOND ME, SCHWARTZ JN et al: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2006; 25:118-134
12. ZIDAN J, DASHKOWSKY I, STAYERMAN C et al: Comparison of HER2 overexpression in primary breast cancer and metastatic sites and its effect on biological targeting therapy of metastatic disease. *Br J Cancer* 2005;93:552-6
13. GANCBERG D, DILEO A, CARDOSO F et al: Comparison of HER-2/neu status between primary breast cancer and corresponding distant metastatic sites. *Ann Oncol* 2002;13:1036-43
14. SCHIPPINGER W, REGITNIG P, BAUERNHOFER T et al: The course of serum HER2/neu levels as an independent prognostic factor for survival in metastatic breast cancer. *Oncology reports* 2004;11:1331-6
15. HAIT WN: The prognostic and predictive values of ECD-HER2. *Clin Cancer Res* 2001;7:2601-4
16. ESTEVA FJ, CHELI CD, FRITSCHKE H et al: Clinical utility of serum HER2/neu in monitoring and prediction of progression-free survival in metastatic breast cancer patients treated with trastuzumab-based therapies. *Breast Cancer Res Treat* 2005;7:R436-R443
17. KÖSTLER WJ, SCHWAB B, SINGER CF et al: Monitoring of serum Her-2/neu predicts response and progression-free survival to trastuzumab-based treatment in patients with metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:1618-24
18. ALI SM, ESTEVA FJ, FORNIER M et al: Serum HER-2/neu change predicts clinical outcome to trastuzumab-based therapy [abst. 500]. *J Clin Oncol* 2006;24:18S
19. Siemens Medical Solutions Diagnostics: Manual do ensaio ADVIA Centaur, HER2/neu (H2n) 2007
20. MOLINA R, JO J, FILELLA X et al: C-erbB-2 oncoprotein in the sera and tissue of patients with breast cancer. Utility in prognosis. *Anticancer Res* 1996;16:2295-300
21. MÜLLER V, WITZEL I, LÜCK HJ et al: Prognostic and predictive impact of the HER-2/neu extracellular domain (ECD) in the serum of patients treated with chemotherapy for metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2004;86:9-18
22. FEHM T, GEBAUER G, JEGER W: Clinical utility of serial serum c-erbB-2 determinations in the follow-up of breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2002;75:97-106

23. FEHM T, JÄGER W, KRAEMER S et al: Changes of serum HER2 status during clinical course of metastatic breast cancer patients. *Anticancer Res* 2004;24:4205-10
24. HAYES DF, YAMAUCHI H, BROADWATER G et al: Circulating HER-2/erbB-2/c-neu (HER-2) extracellular domain as a prognostic factor in patients with metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7:2703-11
25. Hoffman-La Roche: Herceptin – product monograph. Gardiner – Caldwell communications limited, UK 2000
26. HUDELIST G, KÖSTLER W, CZERWENKA K et al: Predicting the clinical course of breast cancer patients undergoing trastuzumab-based therapy, an outlook. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2004;26(3):201-210
27. KONG SY, NAM BH, LEE KS et al: Predicting tissue HER2 status using serum HER2 levels in patients with metastatic breast cancer. *Clin Chem* 2006;52:1510-5
28. SCHONDORF T, HOOPMANN M, WARM M et al: Serologic concentrations of HER-2/neu in breast cancer patients with visceral metastasis receiving trastuzumab therapy predict the clinical course. *Clin Chem* 2002;48:1360-2



Instituto Português de Oncologia - Porto