

RESPOSTA A QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE E SOBREVIDA DE MULHERES COM CARCINOMA DE MAMA TRIPLO NEGATIVO E HER2 PURO E SUA RELAÇÃO COM OBESIDADE, DISTÚRBIOS METABÓLICOS E IMUNOEXPRESSÃO DE RECEPTOR DE LEPTINA

Palavras-Chave: obesidade, câncer de mama, marcadores

Autores(as):

JULIA STRINGELLI MONTEIRO, FCF, UNICAMP

ALICIA CABRAL DANIEL VICENTE, FCM, UNICAMP

LUCAS GRECCO HOFFMAN, FCM, UNICAMP

Prof.^(a) Dr.^(a) Sophie Françoise Mauricette Derchain (orientadora), FCM, UNICAMP

INTRODUÇÃO:

Segundo o banco de dados online GLOBOCAN 2022, o câncer de mama (CM) é a neoplasia maligna mais frequente no mundo, além de ser a maior causa de morte por câncer em mulheres (BRAY, 2024). O CM é uma doença heterogênea com diversas características clínico-patológicas, respostas ao tratamento e prognóstico. É classificado em subtipos moleculares, com perfis genéticos diferentes, que na prática clínica se baseiam na expressão do receptor de estrogênio (ER), receptor de progesterona (PR), receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2) e o marcador de proliferação celular, o Ki-67. Os subtipos moleculares são classificados em CM luminais, quando expressam receptores hormonais e não luminais que incluem tumores com HER2 (CM HER2 puro) ou triplo negativos (CMTN) (ZHANG, et al., 2023). Os carcinomas não luminais, são essencialmente tratados com quimioterapia associada à terapia anti HER2 nos casos que expressam essa proteína. Atualmente, a obesidade tornou-se muito prevalente e está associada com uma maior incidência de CM e pior prognóstico. Mulheres obesas se apresentam com estágios avançados associado a efeitos biológicos do excesso de adiposidade, que inclui aumento dos níveis de estrogênio, hiperinsulinemia, inflamação crônica ou alterações fisiopatológicas na liberação de adipocina. Entretanto, a pior resposta ao tratamento pode ser associada a dosagem inadequada de agentes quimioterápicos (GIOSEFFI, et al., 2022). Além disso, comorbidades metabólicas, quando associadas à obesidade, também levam a maior risco de recorrência de CM (ANWAR, 2021). Existem poucos estudos que avaliam a associação entre a expressão de marcadores do microambiente tumoral e obesidade em mulheres com carcinomas de mama não luminais. A leptina tem sido associada ao desenvolvimento e progressão tumoral, especialmente em contextos de obesidade, embora sua relação com a resposta à quimioterapia e sobrevida permaneça controversa (GARCÍA-ESTEVEZ, 2021). Paralelamente, outros marcadores relacionados ao microambiente tumoral, como linfócitos CD4⁺, CD8⁺ (WANG, 2017) e moléculas reguladoras como CTLA-4 (MONTOTOYU-PUJOL, 2024), vêm sendo estudados por seu papel na imunidade antitumoral e no impacto na eficácia terapêutica. A análise integrada desses fatores pode contribuir para compreender os mecanismos biológicos que influenciam a resposta ao tratamento e o prognóstico das pacientes.

OBJETIVO

Comparar a associação entre obesidade e as características da paciente e do tumor em mulheres com CM HER2 puro e CMTN submetidas à quimioterapia neoadjuvante, e sua relação com resposta patológica. No subgrupo de mulheres com CMTN, comparar a expressão do CD4, CD8 e CTLA 4 em função da obesidade e resposta patológica.

SUJEITOS E MÉTODOS

O projeto “Resposta do microambiente tumoral à terapêutica neoadjuvante em mulheres com carcinoma mamário” foi aprovado pelo CEP (CAAE) e todas as mulheres assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para conceder material para o Biobanco 056. Durante o período de setembro de 2024 à agosto de 2025, foram selecionados blocos e dados clínicos de 220 mulheres com CMTN ou não luminal HER2 puro, virgens de tratamento, submetidas a quimioterapia neoadjuvante como terapia inicial, que receberam atendimento no Hospital da Mulher da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) entre junho de 2016 e junho de 2023. Foram excluídas 19 mulheres por outra neoplasia concomitante em tratamento, que não realizaram cirurgia, com perda de seguimento. Dos 201 casos incluídos na pesquisa (139 CMTN e 62 CM HER2 puro) foram coletados do prontuário eletrônico: índice de massa corpórea (IMC) classificada em não obesas (IMC < 30) e obesas (IMC ≥ 30), menopausa, idade, etnia autodeclarada, tabagismo, etilismo, paridade, comorbidades, estágio T, estágio N, estágio, grau nottingham, tipo histológico, Ki67, resposta patológica. A quimioterapia foi realizada segundo protocolo do serviço. Para mulheres com CMTN o esquema inclui doxorubicina com ciclofosfamidas e docetaxel com carboplatina. Para as mulheres com CM HER2 puro inclui doxorubicina e ciclofosfamida seguida de docetaxel e trastuzumabe

Para análise imunoistoquímica foram incluídas 102 mulheres com CMTN e blocos adequados para avaliação do CD4, CD8 e CTLA-4. Amostras de tecido foram obtidas por meio de biópsia por agulha grossa percutânea em pacientes sem tratamento prévio. A imunohistoquímica (IHQ) foi realizada manualmente seguindo protocolos padrão descrito previamente (Hoffmann et al., 2021). O microambiente tumoral foi avaliado pela expressão das proteínas marcadas por CD4 (Dako, FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD4, Clone 4B12), CD8 (Dako, FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD8, Clone C8/144B) e CTLA4 (ABCAM - Monoclonal Mouse Anti-Human Anti-CTLA4 - Ref.: ab237712ul100). Para avaliação da leptina, inicialmente, para calibração do anticorpo primário monoclonal de Rato (ab16227, Abcam, Cambridge, UK) anti leptina foram separadas 5 lâminas de 5 pacientes diferentes, coradas com 5 diferentes diluições e duração da DAP: diluição 1:200 e DAP longo (50 segundos); 1:250 / DAP curto (25 segundos); 1:250 / DAP longo (50 segundos); 1:300 / DAP curto (25 segundos), 1:300 / DAP longo (50 segundos). A melhor calibração foi 1:250 com DAP curto. Foi optado então por utilizar essa diluição para 40 lâminas. A leitura das lâminas foi realizada por dois patologistas experientes num aumento de 40x em microscópio óptico comum, que observaram que todas as células estavam sendo coradas. Essa marcação difusa e inespecífica comprometeu a interpretação dos resultados, dificultando a distinção entre tecidos neoplásicos e não neoplásico, e impossibilitando realizar uma correlação confiável entre a expressão de leptina e a obesidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Não houve diferença na prevalência de obesidade comparando mulheres com CMTN e CM HER2 puro 23(37,1%) em HER2+ e 47(33,8%) em CMTN. Na Tabela 1 podemos observar que não houve diferenças significativas entre os grupos quanto idade, menopausa, etnia, tabagismo, etilismo e paridade. A presença de comorbidades foi significativamente maior ($p=0.003$) em mulheres obesas 29(64,4%) do que em mulheres não obesas 29(35,4%) com CMTN. Na Tabela 2 não foram observadas diferenças significativas entre as mulheres obesas e não obesas quanto ao estadiamento T, estadiamento nodal (N), tipo histológico e expressão de CD8 e CTLA-4. A expressão de Ki67 foi significativamente maior nas mulheres com CMTN 86(93,5%) quando comparadas com CM HER2 puro+ 17(73,9%) em mulheres não obesas ($p=0.03$). Maior Grau de Nottingham foi observado em mulheres não obesas com CMTN 69(75,0%) quando comparadas com o grupo HER2+ 19(48,7%) ($p=0.004$). Além disso, observou-se uma diferença significativa ($p=0.01$) na expressão de CD4 em mulheres obesas quando comparadas com mulheres não obesas. 24(70,6%) mulheres obesas apresentaram porcentagem de células coradas com CD4 maior ou igual a 5%, comparado com 30(44,1%) das mulheres não obesas. A Tabela 3 apresenta as características relacionadas ao tumor dos grupos em função da resposta. Não foram observadas diferenças significativas entre mulheres com resposta PCR e RCB quanto à obesidade, estágio N, tipo histológico, grau Nottingham e expressão de marcadores. Um estágio T menor foi observado em mulheres com CMTN no grupo PCR 32(66,7%) quando comparado ao grupo RCB 43(42,3%) ($p=0.01$). Também observou-se uma diferença significativa ($p=0.05$) ao comparar a expressão de Ki67 dentro dos grupos PCR, com 20(74,1%) dos CM HER2 puro+ apresentando expressão maior ou igual a 20%, comparado a 44(91,7%) dos CMTN.

Tabela 1. Características demográficas das mulheres com CMTN e CM HER2 puro em função da obesidade

CARACTERÍSTICAS	TOTAL HER2 n62(30.8)	CM HER2 puro		TOTAL CMTN n139(69.2)	CMTN		Valor de P			
		Não obesas n39(62.9)	Obesas n23(37.1)		Não obesas n92(66.2)	Obesas n47(33.8)	p1 = HER2 (não obesa x obesa)	p2 = TN (não obesa x obesa)	p3 = (não obesa) (TN x HER2)	p4 = (obesas) (TN x HER2)
Pós-Menopausa	35(56.4)	19(48.7)	16(69.6)	73(52.5)	49(53.3)	24(51.1)	p= 0.12	p= 0.86	p= 0.70	p= 0.20
Pré-menopausa	27(43.6)	20(51.3)	7(30.4)	66(47.5)	43(46.7)	23(48.9)				
IDADE										
<50	24(38.7)	18(46.1)	6(26.1)	63(45.3)	44(47.8)	19(40.4)	p= 0.18	p= 0.47	p= 1	p= 0.29
≥50	38(61.3)	21(53.9)	17(73.9)	76(54.7)	48(52.2)	28(59.6)				
ETNIA AUTO DECLARADA										
Branca	46(74.2)	29(74.4)	17(73.9)	111(79.9)	74(80.4)	37(78.7)	p= 1	p= 0.83	p= 0.49	p= 0.76
Parda ou Preta	16(25.8)	10(25.6)	6(26.1)	28(20.1)	18(19.6)	10(21.3)				
TABAGISMO*										
Sim	21(33.9)	15(38.5)	6(26.1)	32(23.2)	23(25.0)	9(19.6)	p= 0.41	p= 0.53	p= 0.14	p= 0.55
Não	41(66.1)	24(61.5)	17(73.9)	106(76.8)	69(75.0)	37(80.4)				
ETILISMO**										
Sim	2(13.3)	2(22.2)	0(0.0)	2(3.1)	2(4.5)	0(0.0)	p= 1	p= 1	p= 0.13	p= 1
Não	13(86.7)	7(77.8)	6(100.0)	63(96.9)	42(95.5)	21(100.0)				
PARIDADE***										
Nulipara	5(8.6)	5(13.5)	0(0.0)	11(8.1)	10(11.1)	1(2.2)	p= 1	p= 0.01	p= 0.76	p= 1
Parto 1 ou +	53(91.4)	32(86.5)	21(100.0)	124(91.9)	80(88.9)	44(97.8)				
COMORBIDADES****										
Com comorbidades	28(45.2)	14(35.9)	14(60.9)	58(45.7)	29(35.4)	29(64.4)	p= 0.07	p= 0.003	p= 1	p= 0.80
Sem comorbidades	34(54.8)	25(64.1)	9(39.1)	69(54.3)	53(65.6)	16(35.6)				

Tabela 2. Características do tumor das mulheres com CMTN e CM HER2 puro em função da obesidade

CARACTERÍSTICAS	TOTAL HER2 n62(30.8)	HER2 puro		TOTAL CMTN n139(69.2)	CMTN		Valor de P			
		Não obesas n39(62.9)	Obesas n23(37.1)		Não obesas n92(66.2)	Obesas n47(33.8)	p1 = HER2 (não obesa x obesa)	p2 = TN (não obesa x obesa)	p3 = (não obesa) (TN x HER2)	p4 = (obesas) (TN x HER2)
ESTÁDIO T*										
T1/T2	35(56.4)	25(64.1)	10(43.5)	71(51.4)	50(54.9)	21(44.7)	p= 0.18	p= 0.28	p=0.44	p= 1
T3/T4	27(43.6)	14(35.9)	13(56.5)	67(48.6)	41(45.1)	26(55.3)				
ESTÁDIO N**										
N0	18(29.0)	11(28.2)	7(30.4)	43(33.6)	37(40.7)	16(34.0)	p= 1	p= 0.47	p= 0.23	p= 1
N1 ou +	44(71.0)	28(71.8)	16(69.6)	85(66.4)	54(59.3)	31(66.0)				
TIPO HISTOLÓGICO										
Especial	9(14.5)	4(10.3)	5(21.7)	19(13.7)	14(15.2)	5(10.6)	p= 0.27	p= 0.60	p= 0.58	p= 0.28
Não especial	53(85.5)	35(89.7)	18(78.3)	120(86.3)	78(84.8)	42(89.4)				
Ki67										
≥ 20%	47(77.1)	30(78.9)	17(73.9)	126(91.3)	86(93.5)	40(87.0)	p= 0.76	p= 0.21	p= 0.03	p= 0.19
<20%	14(22.9)	8(21.1)	6(26.1)	12(8.7)	6(6.5)	6(13.0)				
Grau Nottingham										
1 ou 2	32(51.6)	20(51.3)	12(52.2)	40(28.8)	23(25.0)	17(36.2)	p= 1	p= 0.17	p= 0.004	p= 0.30
3	30(48.4)	19(48.7)	11(47.8)	99(71.2)	69(75.0)	30(63.4)				
CD4 (% células coradas)										
≤ 5%		-	-	48(47.1)	38(55.9)	10(29.4)		P=0.01		
>5%		-	-	54(52.9)	30(44.1)	24(70.6)				
CD8 (% células coradas)										
≤ 25%		-	-	29(28.4)	22(32.3)	7(20.6)		p= 0.25		
>25%		-	-	73(71.6)	46(67.7)	27(79.4)				
CTLA-4 (% células coradas)										
≤ 5%		-	-	54(52.9)	39	15		p= 0.22		
>5%		-	-	48(47.1)	29	19				

Tabela 3. Características do tumor das mulheres com CMTN e CM HER2 puro em função da resposta.

CARACTERÍSTICAS		CM HER2 puro			CMTN		Valor de p		
	TOTAL HER2 n62(30.8 %)	PCR n28(45.2%)	RCB n34(54.8%)	TOTAL CMTN n139(69.2%)	PCR n48(34.5%)	RCB n91(65.5%)	p1 = HER2 (PCR vs RCB)	p2 = CMTN (PCR vs RCB)	p3 = PCR (HER2 x CMTN)
Obesidade									
Obesa	23(37.1)	14(50.0)	9(26.5)	47(33.8)	18(37.5)	29(31.9)	p= 0.07	p= 0.57	p= 0.34
Não obesa	39(62.9)	14(50.0)	25(73.5)	92(66.2)	30(62.5)	62(68.1)			
ESTÁDIO T*									
T1/T2	35(56.4)	17(60.7)	18(52.9)	71(51.4)	32(66.7)	39(43.3)	p= 0.61	p= 0.01	p= 0.13
T3/T4	27(43.6)	11(39.3)	16(47.1)	67(48.6)	16(33.3)	51(56.7)			
ESTÁDIO N**									
N0	18(29.0)	8(28.6)	10(29.4)	53(38.4)	18(37.5)	35(38.9)	p= 1	p= 1	p=0.46
N1 ou +	44(71.0)	20(71.4)	24(70.6)	85(61.6)	30(62.5)	55(61.1)			
TIPO HISTOLÓGICO									
Especial	9(14.5)	3(10.7)	6(17.7)	19(13.7)	6(12.5)	13(14.3)	p= 0.49	p= 1	p= 1
Não especial	53(85.5)	25(89.3)	28(82.3)	120(86.3)	42(87.5)	78(85.7)			
Ki67***									
≥ 20	47(77.1)	20(74.1)	27(79.4)	126(91.3)	44(91.7)	82(91.1)	p= 0.76	p= 1	p= 0.05
<20	14(22.9)	7(25.9)	7(20.6)	12(8.7)	4(8.3)	8(8.9)			
Grau Nottingham									
1 ou 2	32(26.1)	13(46.4)	19(55.9)	40(28.8)	14(29.2)	26(28.6)	p= 0.61	p= 1	p= 0.14
3	30(63.9)	15(53.6)	15(44.1)	99(71.2)	34(70.8)	65(71.4)			
CD4 (% células coradas)									
≤ 5%	-	-	-	48(47.1)	15(36.6)	33(54.1)	-	p= 0.11	-
>5%	-	-	-	54(52.9)	26(63.4)	28(45.9)			
CD8 (% células coradas)									
≤ 25%	-	-	-	29(28.4)	10(24.4)	19(31.2)	-	p= 0.51	-
>25%	-	-	-	73(71.6)	31(75.6)	42(68.8)			
CTLA-4 (% células coradas)									
≤ 5%	-	-	-	54(52.9)	21(51.2)	33(54.1)	-	p= 0.84	-
>5%	-	-	-	48(47.1)	20(48.8)	28(45.9)			

Tabela 1: *Faltam dados de 1 TN **Faltam dados de 47 HER2+ E 74 TN ***Faltam dados de 4 HER2+ E 4 TN ****Faltam dados de 12 TN

Tabela 2: *Faltam dados de 1 TN **Faltam dados de 2 TN ***Faltam dados de 1 HER e 1 TN ****Faltam dados de 37 TN

Tabela 3: *Faltam dados de 1 TN **Faltam dados de 1 TN ***Faltam dados de 1 TN ****Faltam dados de 37 TN

CONCLUSÕES:

Com base nos resultados obtidos, não houve diferença significativa na prevalência de obesidade entre mulheres com câncer de mama triplo-negativo (CMTN) e HER2 puro, bem como em relação à idade, menopausa, etnia, tabagismo, etilismo e paridade. Entretanto, observou-se maior presença de comorbidades em mulheres obesas com CMTN.

A obesidade não se associou a estadiamento tumoral, tipo histológico, expressão de CD8 e CTLA-4, mas esteve relacionada a maior expressão de CD4. Além disso, tumores CMTN apresentaram características mais agressivas, como maior grau histológico e maior expressão de Ki67, em comparação aos HER2 puros, independentemente do estado nutricional. Não houve associação significativa entre obesidade e resposta patológica completa (pCR); contudo, um estadiamento T menor foi mais frequente em pacientes com CMTN que atingiram pCR.

BIBLIOGRAFIA

ANWAR, S. L.; CAHYONO, R.; PRABOWO, D.; AVANTI, W. S.; CHORIDAH, L.; DWIANINGSIH, E. K.; HARAHAP, W. A.; ARYANDONO, T. **Metabolic comorbidities and the association with risks of recurrent metastatic disease in breast cancer survivors.** *BMC Cancer*, [s.l.], v. 21, n. 1, p. 590, 2021.

BRAY, F.; LAVERSANNE, M.; SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A. **Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries.** *CA Cancer Journal for Clinicians*, [s.l.], v. 74, n. 3, p. 229-263, 2024.

GARCÍA-ESTEVEZ, Laura; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, Silvia; MORENO-BUENO, Gema. **The Leptin Axis and Its Association With the Adaptive Immune System in Breast Cancer.** *Frontiers in Immunology*, Lausanne, v. 12, p. 784823, 2021.

GIOSEFFI, C.; CARVALHO PADILHA, P.; VILLAÇA CHAVES, G.; et al. **Body Weight, Central Adiposity, and Fasting Hyperglycemia Are Associated with Tumor Characteristics in a Brazilian Cohort of Women with Breast Cancer.** *Nutrients*, [s.l.], v. 14, n. 22, p. 4926, 2022.

HOFFMANN LG, SARIAN LO, VASSALLO J et al. **Evaluation of PD-L1 and tumor infiltrating lymphocytes in paired pretreatment biopsies and post neoadjuvant chemotherapy surgical specimens of breast carcinoma.** *Scientific Reports*. 2021 Nov 18;11(1):22478.

MONTOYO-PUJOL, Y. G.; PONCE, J. J.; DELGADO-GARCÍA, S.; et al. **High CTLA-4 gene expression is an independent good prognosis factor in breast cancer patients, especially in the HER2-enriched subtype.** *Cancer Cell International*, London, v. 24, p. 371, 2024.

WANG, Kai; SHEN, Tiansheng; SIEGAL, Gene P.; WEI, Shi. **The CD4/CD8 ratio of tumor-infiltrating lymphocytes at the tumor-host interface has prognostic value in triple-negative breast cancer.** *Human Pathology*, Philadelphia, v. 69, p. 110-117, 2017.

ZHANG, T.; TAN, T.; HAN, L.; et al. **Predicting breast cancer types on and beyond molecular level in a multi-modal fashion.** *npj Breast Cancer*, [s.l.], v. 9, p. 16, 2023.