

C535443  
R 1115081/99

01.06.99

"DETERMINAÇÃO DOS RECEPTORES ESTROGÊNICOS  
(R<sub>c</sub>E<sub>2</sub>) NO CARCINOMA MAMÁRIO".

FRANCISCO MANUELITO LIMA DE ALMEIDA

Dissertação apresentada ao Departamento de Ginecologia, Obstetrícia e Pediatria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do grau de Mestre em Tocoginecologia.

FC-00006270-2

Orientador: Prof.Dr. ÍTALO BARUFFI

Ribeirão Preto

-1982-

616.992 49  
A 447 d  
1982

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
BIBLIOTECA SETORIAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Nº 927

Data 21/9/84

com larva  
biológica  
de larva  
do larva  
ciência  
ver

"Trabalho realizado nos  
Departamentos de Ginecologia,  
Obstetrícia e Pediatria e Fi  
siologia da Faculdade de Medi  
cina de Ribeirão Preto da Uni  
versidade de São Paulo".

1

~~1~~  
"A beleza dum rio,  
se faz graças a  
sua nascente".

"Eis os degraus para esta minha formação".

Minha mãe e manos  
Meus tios e ao tio-padrinho  
Carla Virgínia Araújo

Drs.:

Aprígio Quixadá Furtado  
Hiderval Gomes Leite  
João Aldésio Pinheiro Holanda  
José Ananias Cisne Filho  
José Aristodemo Pinotti  
José Expedito César  
José Galba Araújo  
José Lenine da Justa  
Miguel Schettine Neto  
Oscar Neres dos Santos

Às famílias:

Maria Alves Costa - Campinas-SP.  
Maria Aparecida Machado Couto - Campinas-SP.  
Maria Aparecida Whitehead - Ribeirão Preto-SP.  
Maria Irles Alencar - Fortaleza-CE.

"Eis os degraus para esta minha formação".

Minha mãe e manos  
Meus tios e ao tio-padrinho  
Carla Virgínia Araújo

Drs.:

Aprígio Quixadá Furtado  
Hiderval Gomes Leite  
João Aldésio Pinheiro Holanda  
José Ananias Cisne Filho  
José Aristodemo Pinotti  
José Expedito César  
José Galba Araújo  
José Lenine da Justa  
Miguel Schettine Neto  
Oscar Neres dos Santos

Às famílias:

Maria Alves Costa - Campinas-SP.  
Maria Aparecida Machado Couto - Campinas-SP.  
Maria Aparecida Whitehead - Ribeirão Preto-SP.  
Maria Irles Alencar - Fortaleza-CE.

①  
✓  
"Agradecimento Especial"

CRISTIANO LORENZETTI COLLARES

Diva Carvalho

~~Armando de Oliveira~~

~~Carmen Lúcia Della Motta Gonçalves~~

~~Dulcinéia Della Motta~~

~~Suzete Maria Thienne~~

"Muito Obrigado"

- Aos Professores, Pós-Graduandos, Residentes e Funcionários do Departamento de Ginecologia, Obstetrícia e Pediatria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo.
- Aos Professores, Pós-Graduandos, Residentes e Funcionários do Departamento de Fisiologia e Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo.
- Precisei do apoio de vocês e fui atendido no momento preciso, no dia a dia, na realização deste trabalho.

Ana Lúcia de Azevedo - (G.O.P)

Dirlei Aparecida Azevedo Abreu - vō - (Patologia)

Prof.Dr. Hector Francisco Terenzi - (Fisiologia)

José Alberto da Silva - (Lab. Endócrino)

José Roberto de Oliveira - zezão - (Fisiologia)

Profa.Dra. Maria Angeles S.L. Velludo - (Patologia)

Marina Holanda - (Fisiologia)

- Aos Funcionários da Secção de Pós-Graduação.
- Aos Funcionários da Secção de Atividades Administrativas
- As instituições que confiaram em mim e alimentaram o meu ideal.

CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior)

FUSEC (Fundação de Saúde do Estado do Ceará)

MEAC (Maternidade Escola Assis Chateaubriand)

UFC (Universidade Federal do Ceará)

## "Agradecimento Impar"

Prof.Dr. Italo Baruffi, por ter me dado a oportunidade de engatinhar pelo caminho da pesquisa científica, sob sua orientação.

Prof.Dr. José Antunes Rodrigues, quem me proporcionou a oportunidade de trabalhar sob a sua orientação.

Prof.Dr. José Eduardo de Salles Roselino, o amigo na hora precisa.

Profa.Dra. Regina Bicudo Pisani, quem a mim ensinou, "Ser possível ter os nossos princípios respeitados, sem prejudicar o próximo".

Prof.Dr. Nelson Augusto, compreensão e diálogo fácil.

# ÍNDICE

INTRODUÇÃO .....	1
MATERIAL E MÉTODO .....	12
RESULTADOS .....	23
DISCUSSÃO .....	32
CONCLUSÕES .....	38
SUMÁRIO .....	39
SUMMARY .....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	41

## INTRODUÇÃO

O câncer da mama é hoje em dia a principal causa de morte por câncer nas mulheres. A Organização Mundial de Saúde (OMS), através de estudos, demonstrou que a incidência populacional do câncer varia conforme a localização geográfica, e catalogou como de alto risco a raça branca dos Estados Unidos e Norte da Europa, pois apresentaram a incidência de 51,3/100.000 casos de carcinoma mamário por ano. A África do Sul e o Japão têm a frequência mais baixa com 12,2/100.000 casos por ano. A Europa Ocidental e América do Sul ocupam uma população de risco intermediário com 23,5/100.000 casos de carcinoma mamário por ano (Shimkin, 1973).

No Brasil, segundo os dados fornecidos pelo Registro Nacional de Tumores (Torloni, 1978), a incidência do carcinoma da mama foi de 19,8% entre os tumores malignos na população feminina, ocupando o 3º lugar entre as neoplasias malignas (Mirra, 1969). No Estado de São Paulo a frequência foi de 36,8/100.000 casos por ano e diagnosticaram 1064 novos casos, só no Município da Capital Paulista (Souza & Salvatore, 1979).

São diagnosticados anualmente mais de 90.000 casos de carcinoma mamário e destes, 30.000 mulheres morrem anualmente pelo câncer de mama (Osborne & Mc Guire, 1979). Poucos foram os progressos no nosso conhecimento sobre a doença e seu tratamento, até recentemente. Nos

últimos anos, no entanto, a pesquisa básica sobre os fatores que controlam o crescimento celular do câncer de mama foi recompensada com dados novos e significativos, susceptíveis de sua aplicação no tratamento clínico destas pacientes. Na realidade, a conduta de tratamento dessa neoplasia foi alterada com os avanços das pesquisas laboratoriais. Este avanço pelo conhecimento dos receptores hormonais, passou a orientar a terapêutica conforme a dependência hormonal do tumor.

Os estudiosos em Patologia Mamária sempre se interessaram pela dependência hormonal destes tumores, o que pode ser evidenciado desde o século XIX, quando Sir Astley Cooper (1829) comentou nas suas observações clínicas que os tumores mamários apresentavam alguma regressão na sintomatologia no começo de cada menstruação. Baseado nestas observações, Shinzinger (1889), 60 anos depois, apresentou sugestões empíricas para terapia endócrina do carcinoma mamário por ablação das gônadas. Porém, os primeiros trabalhos apresentados sobre carcinoma mamário e sua resposta à ooforectomia foram realizados no Glasgow Cancer Hospital por George Thomas Beatson (1896), relatando melhoras clínicas nas portadoras do câncer inoperável de mama. Esses resultados levaram-no a pensar que a gônada era o ponto de estimulação do carcinoma da glândula mamária.

Posteriormente, uma série de trabalhos mostrando resultados satisfatórios à endocrinoterapia

pia aumentaram o entusiasmo com relação ao tratamento hormonal do carcinoma mamário. Esse entusiasmo levou Boyd (1900) a emitir a seguinte opinião sobre seus resultados: "pareciam a mim provar que a regressão do tumor mamário depois da ooforectomia não era ocorrência acidental".

É sabido já há quase um século, que a alteração do ambiente hormonal induz a regressão tumoral em certas pacientes portadoras do câncer de mama metastático. Essa observação não constitui surpresa, uma vez que o crescimento da glândula mamária normal é influenciado por inúmeros hormônios.

Os estudos epidemiológicos do carcinoma mamário mostraram alguns indícios de influências endocrinológicas com relação ao risco para doença. Assim, este é praticamente inexistente em mulheres com disgenesia gonadal, bem como, nas pré-púberes. É elevado o risco nas mulheres com menopausa precoce e/ou menopausa tardia e ainda naquelas cuja primeira gestação ocorreu após os 30 anos de idade, ainda que não tenham sido utilizados métodos anticoncepcionais. Ainda com relação ao risco do carcinoma mamário por influência endocrinológica, chama a atenção a baixa incidência de carcinoma mamário nos homens.

A glândula mamária, órgão integrado ao sistema endócrino reprodutor, está sob a ação de numerosos fatores que regulam a secreção do leite e produzem um

desenvolvimento mamário normal. O crescimento e a diferenciação ductal dependem da presença do estrógeno, do corticóide e de somatotrofinas (Lyons & cols, 1958). O lóbulo mamário é estimulado em seu crescimento pelos hormônios: prolactina, progesterona, estrógeno e somatotrofinas (Cowie & Tindal, 1971), estimulação essa que se processa via receptor.

Quando ocorre a neoplasia, a célula de um tecido sensível que responde ao estrógeno, poderá obedecer a teoria da progressão tumoral: *célula normal sensível* → *célula neoplásica sensível* → *célula neoplásica autônoma* (Foulds, 1969). Assim, uma *célula neoplásica sensível* seria aquela que contém quantidades normais ou diminuídas do número de seus receptores, estando sob controle hormonal e respondendo como a *célula normal sensível*. Na *célula neoplásica autônoma*, os receptores estariam ausentes ou em muito menor concentração, fazendo assim que se evidenciasse a perda da regulação endócrina celular.

### Receptores hormonais

O sistema nervoso transmite as suas informações através de alterações do potencial de membrana ao longo de suas fibras nervosas, enquanto que no sistema endócrino as mensagens são transmitidas sistematicamente pela corrente sanguínea, sob a forma de substâncias químicas altamente especializadas, os hormônios, que vão atuar em células distantes e diferenciadas, que têm a capacidade de receber

tais informações e a elas responderem. Os elementos que recebem tais informações denominam-se receptores e podem estar localizados ao nível da membrana, citoplasma e núcleo.

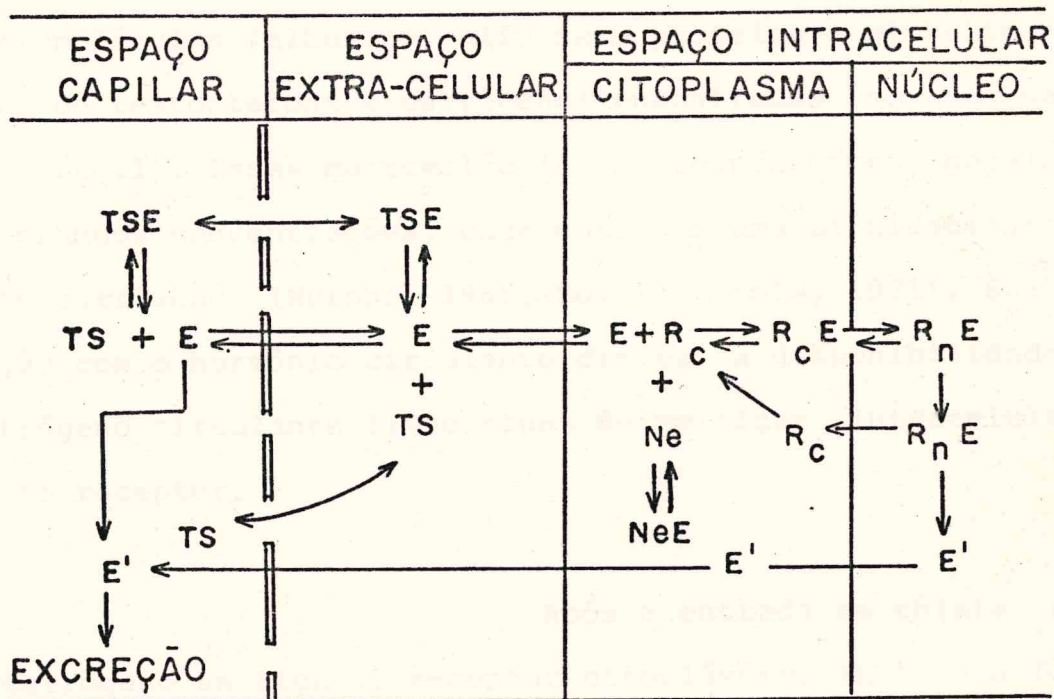
A ação dos hormônios estrogênicos sobre os órgãos alvos foi primeiro evidenciada por Glascock & Hoekstra, (1959). Entretanto, a demonstração da presença dessas proteínas receptoras só foi possível pela utilização de hormônios marcados, e pela avaliação da concentração desses hormônios nos tecidos alvo. Assim, Jensen & Jacobson, (1960) demonstraram a presença de receptores para estrógeno em tecido uterino, vagina e glândula mamária.

O receptor estrogênico é uma macromolécula protéica (estrofilina), termolábil, única, ácida de peso molecular 200.000 daltons com constante de dissociação  $0,4 - 2,0 \times 10^{-9}$  M, sensível às ligações de reagentes SH e iodinação. É destruída por enzimas proteolíticas, mas não por nucleases, se liga ao hormônio por ligações não covalentes. A ligação é específica seguindo a regra da polaridade. A interação entre receptor e hormônio é do tipo hidrofóbico formando um complexo que se sedimenta nas formas moleculares solúveis 8 S e 4 S, dependendo da força iônica do gradiente (Muller & cols, 1972).

A interação do estrógeno com os receptores intracelulares (Fig.1), depende da quantidade do hormônio livre (E). A entrada desse hormônio na célula pode

*N50*

FIGURA 1 - ESQUEMA DA LIGAÇÃO DO RECEPTOR ESTROGÊNICO.



TS- TRANSPORTADORES SANGUÍNEOS E- ESTRÓGENO R<sub>C</sub>R<sub>N</sub>- RECEPTOR CITOPLÁSMICO E NUCLEAR Ne- NAO ESPECÍFICO (CLARK & PECK, 1977).

ocorrer por difusão simples ou facilitada (Peck & cols, 1973), independe da energia metabólica e da presença do receptor, não sendo inibida por outros agentes estrogênicos. Por outro lado, parece existir uma correlação entre a resposta biológica e a presença de receptores (Katzenellenbogen, 1980).

Os estrógenos se ligam a muitas macromoléculas (albumina, alfa feto proteína e globulina ligadora de testosterona e estrógeno) encontradas no sangue (TS, Fig.1). Essas macromoléculas estão presentes geralmente em grandes concentrações, cada qual tem uma afinidade própria pelo estrógeno (Murphi, 1968; Soloff & cols, 1971). Sua ligação com o hormônio circulante diminui a disponibilidade do estrógeno circulante livre capaz de se ligar intracelularmente ao receptor.

Após a entrada na célula alvo, o estrógeno se liga ao receptor citoplásmico ( $R_c$ ) para formar o complexo receptor estrogênico ( $R_c E_2$ ), ou associa-se com vários sítios de ligação de baixa afinidade, não específicos (Ne) dentro do compartimento citoplásmico (Fig.1). Assim, a retenção do estrógeno intracelular sob condição de equilíbrio envolve dois tipos de sítios de ligação: um número limitado que tem alta afinidade e especificidade; outro com baixa especificidade, mas com grande capacidade de ligação (Gorski & cols, 1968; Rochefort & Baulieu, 1969; Erdos & cols, 1971).

O complexo  $R_c E_2$  de alta afinidade desloca-se para o núcleo  $R_n E_2$  nas células alvo (Fig.1). Este complexo se liga à cromatina nuclear "in loci" chamado sítios aceptores, e a partir daí se iniciam os processos desencadeadores da síntese de RNA mensageiro (King, 1976) e das respostas precoces à ação estrogênica (Katzenellenbogen & cols, 1979).

Vários pesquisadores demonstraram, anteriormente, que certos carcinomas de mama humana, primários ou metastáticos, contêm diferentes concentrações desses receptores e que são classificados como receptores positivos ou negativos. Além disso, que a presença desses receptores pode ser útil para predizer a resposta das pacientes à terapia hormonal, embora nem todas respondam ao tratamento com regressão tumoral (Pisani & Pinotti, 1980).

Dados de vários laboratórios em 1964 no Workshop Internacional em Bethesda, Maryland, confirmaram que a dosagem da proteína receptora de estrógeno (RE) em peças neoplásicas é o indicador bioquímico útil da dependência ou independência hormonal do tumor, segundo o receptor estrogênico esteja presente ou ausente (Mc Guire & cols, 1975). Além disso, cada vez mais se acumulam as evidências de que a proteína receptora de estrógeno (RE) é uma variável prognóstica importante, fornecendo informações sobre a história natural e a biologia do tumor, além de dados indicadores para no

vas estratégias no tratamento. A detecção de outros indicadores também foi tentada através da determinação do sexo cromossômico e sua topografia no carcinoma mamário (Baruffi & cols, 1971).

Os critérios clínicos tais como: a menopausa, os locais de comprometimento tumoral e o intervalo clínico da doença após a cirurgia, também não melhoraram significativamente a capacidade do clínico para selecionar a terapêutica adequada.

Entretanto, em vista do índice de resposta ao tratamento endócrino ser muito baixo, a monoterapia e a poliquimioterapia tornaram-se cada vez mais populares como terapêuticas primárias da doença metastática. Porém, esta terapêutica não está livre de morbidade significativa e mortalidade ocasional (Trocoli & cols, 1979). Algumas pacientes que poderiam ter uma remissão durável com a terapêutica endócrina, que é mais simples e menos tóxica, às vezes são excluídas desta terapêutica por falta de um método acurado para determinar, "a priori", quais as melhores pacientes para a quimioterapia e quais as melhores candidatas à manipulação hormonal. A seleção da terapêutica, através do conhecimento do receptor estrogênico, diminuiria o número de pacientes expostas à quimioterapia ou aos procedimentos ablativos endócrinos, os quais têm a probabilidade de serem ineficazes quando não bem selecionados.

Assim, com base nos conhecimen  
tos apresentados, parece claro a necessidade e a utilidade de  
determinar sempre que possível a hormônio-dependência do car  
cinoma mamário para melhor orientação na terapêutica endôcri  
na.

## OBJETIVO

As publicações sobre a utilização de técnicas que visam a detecção de receptores hormonais para o estrógeno nas neoplasias malignas de mama, embora tenham procurado demonstrar que são úteis na orientação da terapêutica hormonal, apresentam resultados bastantes diversos, às vezes até mesmo contraditórios, quanto às respostas clínicas à endocrinoterapia.

O objetivo primordial deste trabalho é procurar implantar como rotina, no Departamento de Ginecologia, Obstetrícia e Pediatria, o ensaio para receptor de estrógeno ( $R_{c}E_2$ ), visando uma melhor orientação terapêutica para os tumores hormônio-dependentes do carcinoma mamário, a fim de que o Serviço possa adquirir sua própria experiência e tenha a sua opinião sobre a metodologia tão atual. Além disso, permitirá avaliar a frequência de tumores hormônio-dependentes e orientar a terapêutica hormonal nos casos do Departamento.

Os objetivos futuros serão a implantação de ensaios para a determinação de receptores para outros esteróides, bem como, a longo prazo, avaliar os resultados de uma orientação terapêutica hormonal dirigida pelos ensaios de receptores hormonais.

## MATERIAL E MÉTODO

O presente trabalho foi realizado com material obtido através de biópsias e de peças cirúrgicas de 27 pacientes portadoras do carcinoma mamário do Setor de Patologia Mamária do Departamento de Ginecologia, Obstetrícia e Pediatria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

### A amostra

Na tabela 1, estão contidos os dados referentes à distribuição de frequência das pacientes segundo a faixa etária e o estadiamento clínico da doença. A idade variou de 34 a 77 anos, sendo mais frequentes as pacientes situadas nos intervalos de 36 a 40 anos, 51 a 55 anos e > 70 anos. Quanto ao estadiamento clínico a maioria das pacientes pertenciam ao estágio II (70,4%).

Na tabela 2, estão relacionadas as características histológicas das neoplasias (tipo histológico, grau de diferenciação e celularidade) onde se observa que todos os 27 casos são carcinomas ductais invasores, prevalecendo os tumores diferenciados com hiper ou hipocelularidade.

A paridade, a lactação média por filho (meses) e o estado menstrual das pacientes submetidas a determinação dos receptores estrogênicos estão contidos na



TABELA 2 - Achados histológicos (tipo histológico, grau de diferenciação e celularidade) dos 27 casos submetidos a determinação de receptores estrogênicos.

Casos	Histologia	Diferenciação	Celularidade
*01	Ca ductal invasor	Diferenciado	hipo
*02	Ca ductal invasor	Diferenciado	hiper
*03	Ca ductal invasor	Mod. dif.	hiper
*04	Ca ductal invasor	Mod. dif.	hiper
*05	Ca ductal invasor	Diferenciado	hipo
*06	Ca ductal invasor	Diferenciado	hiper
*07	Ca ductal invasor	Diferenciado	hiper
*08	Ca ductal invasor	Diferenciado	hipo
*09	Ca ductal invasor	Diferenciado	hiper
*10	Ca ductal invasor	Diferenciado	hipo
*11	Ca ductal invasor	Diferenciado	hipo
*12	Ca ductal invasor	Diferenciado	hiper
*13	Ca ductal invasor	Diferenciado	hiper
*14	Ca ductal invasor	Diferenciado	hiper
15	Ca ductal invasor	Diferenciado	hipo
16	Ca ductal invasor	Mod. dif.	hipo
17	Ca ductal invasor	Indiferenciado	hiper
18	Ca ductal invasor	Mod. dif.	hipo
19	Ca ductal invasor	Indiferenciado	hiper
20	Ca ductal invasor	Mod. dif.	hiper
21	Ca ductal invasor	Mod. dif.	hipo
22	Ca ductal invasor	Mod. dif.	hiper
23	Ca ductal invasor	Diferenciado	hipo
24	Ca ductal invasor	Indiferenciado	hipo
25	Ca ductal invasor	Diferenciado	hipo
26	Ca ductal invasor	Mod. dif.	hiper
27	Ca ductal invasor	Diferenciado	hipo

Obs.: Mod. dif. - Moderadamente diferenciado

\*R<sub>c</sub>E<sub>2</sub> positivo > 3 fentomoles/mg proteína citosol

tabela 3, onde se observa o predomínio de pacientes pós-menopausadas, multíparas e que amamentaram.

Na tabela 4, estão contidos os dados de idade, menarca, características menstruais, diagnóstico clínico e histológico das pacientes como controle.

### Coleta do material

A coleta de material foi realizada no centro cirúrgico ou no ambulatório de Patologia Mamária do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, logo após a sua exérese.

Cuidados especiais foram tomados na hora da coleta, tais como a limpeza macroscópica do tecido para a retirada de áreas necróticas, tecido adiposo e coágulos. Ocasionalmente, quando ocorria dificuldades macroscópica, para auxiliar esta tarefa utilizou-se um microscópio estereoscópico (*Zeiss K120/76 aumento 10 vezes*). Esses procedimentos se fizeram necessários para evitar erros na etapa da de terminação da concentração de proteína.

Quando não foi possível iniciar o ensaio de imediato, a peça foi colocada num frasco de polipropileno, contendo solução do tampão TRIS e armazenada, por período não superior a 10 semanas em nitrogênio líquido, (Barnes & cols, 1977; Leclercq & cols, 1973).

N/A

TABELA 3 - Paridade, lactação e estado menstrual das 27 pacientes submetidas a determinação de receptores estrogênicos.

Casos	Paridade	Lactação média p/filho meses	Estado Menstrual
*01	7	12	Pós-Menopausa
*02	0	0	Pós-Menopausa
*03	3	6	Pós-Menopausa
*04	2	3	Pós-Menopausa
*05	0	0	Pós-Menopausa
*06	0	0	Menacme
*07	6	4	Pós-Menopausa
*08	5,	2	Pós-Menopausa
*09	6	3	Pós-Menopausa
*10	2	4	Pós-Menopausa
*11	3	2	Menacme
*12	1	0	Menacme
*13	ne	ne	Pós-Menopausa
*14	3	3	Menacme
15	2	0	Menacme
16	9	6	Pós-Menopausa
17	2	3	Menacme
18	3	3	Menacme
19	ne	ne	Pós-Menopausa
20	1	2	Menacme
21	1	12	Pós-Menopausa
22	10	6	Pós-Menopausa
23	0	0	Pós-Menopausa
24	8	5	Pós-Menopausa
25	9	6	Pós-Menopausa
26	3	3	Pós-Menopausa
27	1	12	Pós-Menopausa

Obs.: ne (não especificado)

\*R<sub>c</sub>E<sub>2</sub> positivo > 3 fentomoles/mg proteína citosol

TABELA 4 - IDADE, MENARCA, CARACTERÍSTICAS MENSTRUAIS, DIAGNÓSTICO CLÍNICO E HISTOLÓGICO DOS CASOS CONTROLE.

CASOS	PRONTUÁRIO Nº	R <sub>C</sub> <sup>2</sup> fentomoles	IDADE	MENARCA-CICLO MENSTRUAL	DIAGNÓSTICO	
					CLÍNICO	HISTOLÓGICO
01	026057	0,7	22 a	13 $\frac{4}{30}$ 100	hipertrofia bilateral	normal
02	052830	0	18 a	13 $\frac{3}{30}$ 100	hipertrofia bilateral	normal
03	050871	0	18 a	13 $\frac{5}{30}$ 100	hipertrofia bilateral	normal
04	070868	0	22 a	11 $\frac{3}{30}$ 100	hipertrofia bilateral	normal
05	070104	1,2	20 a	12 $\frac{4}{30}$ 100	hipertrofia bilateral	normal
06	063764	0	22 a	11 $\frac{5}{30}$ 100	hipertrofia bilateral	normal
07	077350	0	19 a	14 $\frac{7}{34}$ 100	hipertrofia bilateral	normal
08	070978	0,3	23 a	13 $\frac{3}{35}$ 100	hipertrofia bilateral	normal
09	056954	0	17 a	15 $\frac{3}{30}$ 100	hipertrofia bilateral	normal
10	059034	0,8	22 a	11 $\frac{5}{25}$ 100	hipertrofia bilateral	normal
11	063412	1,0	24 a	13 $\frac{3}{28}$ 100	hipertrofia bilateral	normal
12	056821	0	19 a	14 $\frac{5}{30}$ 100	hipertrofia bilateral	normal

### Preparação do citosol

O material foi fragmentado com o auxílio do micrótomo de congelação ou de bisturi. A seguir os fragmentos de tecidos foram triturados a 4°C num almofariz contendo tampão TRIS (TRIS básico 10 mM, EDTA 1,5 mM em pH 7,4 acrescido de 6 mM  $\beta$ -Mercaptoetano), na proporção de 1/4 (peso/volume). A homogeneização foi realizada com o auxílio de um microdismembrador Braun (Melsugen, República Federal Alemã), durante dois minutos, numa velocidade de 1.500 rotações por minuto.

O citosol foi obtido por ultracentrifugação refrigerada a 4°C do homogeneizado (Beckman L 550 B), 105.000 x g, rotor 50 titânio, durante 60 minutos (Mc Guire & De La Garza, 1973). O sobrenadante foi removido com o auxílio de uma pipeta Pasteur, tomando-se o cuidado de não remover a camada de lipídios na porção superior do tubo.

### Dosagem de proteína

A determinação da concentração de proteína na fração citosólica, foi realizada em alíquotas de diluições adequadas do homogeneizado total do tecido da glândula mamária, utilizando o método de Lowry (Lowry & cols, 1951), e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro Du 2-Beckmann a um comprimento de onda 660 m $\mu$ .

O citosol foi diluído de forma a conter uma concentração de 4 mg de proteína/ml, concentra

ção esta ideal para se trabalhar quando se emprega o método de separação do carvão revestido com dextrana (CRD), (Korenman & Dukes, 1970).

Realização do ensaio para detecção do receptor citoplásmico estrogênico ( $R_{E_2}$ ).

Uma vez obtida a fração adequada do citosol, realizou-se ensaio para detecção de receptores citoplásmicos estrogênicos com base no método empregado por McGuire, (1973); e Heuson, (1975), de acordo com o protocolo na tabela 5. Usando tubos em duplicatas com cinco concentrações diferentes e crescentes de 17- $\beta$ -estradiol triciado (50 Ci/mmol; 0,018838 pmol/ml), carvão revestido com dextrana (CRD) carvão 0,5g% e dextrana 70 0,05g% e o citosol em volume constante, completou-se o volume dos tubos para 1,5 ml com tampão TRIS. Esses tubos foram denominados como:

Total: 17- $\beta$ -estradiol triciado  
(0,018 pmol/ml a 0,110 pmol/ml), tampão TRIS (1,4 a 0,9 ml).

Branco: 17- $\beta$ -estradiol triciado  
(0,018 pmol/ml a 0,110 pmol/ml), tampão TRIS (0,9 a 0,4 ml) e carvão revestido com dextrana (CRD) 0,5 ml.

Citosol: 0,3 ml, 17- $\beta$ -estradiol  
(0,018 pmol/ml a 0,110 pmol/ml), tampão TRIS (0,6 a 0,1 ml) e carvão revestido com dextrana (CRD) 0,5 ml.

Após um período de incubação de

TABELA 5 - Protocolo do ensaio de receptor estrogênico.

Branco		$^3\text{H-E}_2$	Tampão	Carvão
Tubo	ml	pmol	ml	ml
1	0,1	0,01838	0,9	0,5
2	0,2	0,03676	0,8	0,5
3	0,3	0,05514	0,7	0,5
4	0,4	0,07352	0,6	0,5
5	0,6	0,11028	0,4	0,5

Citosol		$^3\text{H-E}_2$	Tampão	Carvão
Tubo/ml	ml	pmol	ml	ml
1/0,3	0,1	0,01838	0,6	0,5
2/0,3	0,2	0,03676	0,5	0,5
3/0,3	0,3	0,05514	0,4	0,5
4/0,3	0,4	0,07352	0,3	0,5
5/0,3	0,6	0,11028	0,1	0,5

Total		$^3\text{H-E}_2$	Tampão
Tubo	ml	pmol	ml
1	0,1	0,01838	1,4
2	0,2	0,03676	1,3
3	0,3	0,05514	1,2
4	0,4	0,07352	1,1
5	0,6	0,11028	0,9

18 horas a 4°C as amostras contidas nos tubos de citosol e branco foram submetidas ao tratamento com *carvão revestido com dextrana (CRD)*. Foram pipetados 0,5 ml da suspensão de carvão e sob agitação constante por 30 minutos a 4°C. Logo depois o material foi centrifugado por um período de 20 minutos numa velocidade de 2.000 rotações por minuto a 4°C., para a sedimentação do carvão contendo o 17-β-estradiol triciado não ligado à proteína receptora.

### Contagem da radioatividade

A contagem da radioatividade foi efetuada pela adição de uma alíquota de 0,3 ml do sobrenadante, a um volume de 5 ml de um coquetel para cintilação líquida constituída de: Dioxano 1.000 ml, Naftaleno 12,5 g%, PPO 0,75g% e POPOP 0,38 g% (Mc Guire, 1973).

A leitura foi realizada no espectrômetro de cintilação líquida Beckman L S 8.100, Programa 2 (Trício, 10 minutos, erro Sigma 2%).

### Cálculos

Pelas leituras dos tubos denominados citosol, branco e total foi possível calcular os valores correspondentes ao estradiol ligado à proteína receptora, estradiol livre e a relação entre esses dois valores. Empregando o método de Scatchard pôde-se estimar o valor da constante de dissociação (Kd), bem como, a concentração de recep

914

tores citoplásmicos presentes (Scatchard, 1949).

O resultado foi expresso em fenotomoles de 17-β-estradiol ligado por miligrama de proteína no citosol (European Organization Research Treatment Cancer, 1973). O critério histológico para caracterizar a diferenciação dos tumores analisados foi o de Mc Carty & cols (1977), que leva em consideração para classificação a presença de estruturas tubulares e adenocísticas.

Como controle negativo de ensaio, foram determinados 12 R<sub>e</sub>E<sub>2</sub> de tecidos mamários histologicamente normais, obtidos de pacientes portadoras de hipertrofia mamária bilateral, que foram submetidas à mastoplastias reducionistas.

## RESULTADOS

Na tabela 6, estão contidos os valores das determinações dos receptores citoplásmicos estrogênicos  $R_c E_2$  dos 27 casos de carcinoma ductal invasor.

A positividade do  $R_c E_2$  no material estudado, tabela 6, foi de 51,9%, estando na média apresentada pela literatura, variando de 41 a 70% (Mc Guire & cols, 1975; Alegria & cols, 1979; Antunes 1980; Brentani & cols, 1981).

Analisando os dados da tabela 7, onde estão apresentados os dados referentes à positividade do  $R_c E_2$ , sua relação com a idade e o estadiamento clínico da doença, embora considerando pequeno o número de casos investigados, verifica-se que não existem diferenças no número de receptores de estrógeno positivo, nas diversas faixas etárias e nos diferentes estadiamentos clínicos.

Quando se relacionam os dados referentes à paridade, com a presença do  $R_c E_2$ , verifica-se que das 13 multíparas, 7 foram  $R_c E_2$  positivo. Quando se agrupa as nulíparas com as primíparas, num total de 8 casos, 4 foram  $R_c E_2$  positivo, tabela 8.

Duas pacientes não tinham especificações na história clínica, quanto à paridade e à amamentação. Foram os casos de número 13,  $R_c E_2$  positivo e número 19

TABELA 6 - Valores das determinações dos receptores estrogênicos nos casos de carcinoma invasor de mama.

Casos	Prontuário nº	R <sub>C</sub> E <sub>2</sub> fentomoles/mg proteína no citosol
*01	063906	22
*02	064319	72
*03	037077	63
*04	063052	39
*05	062604	12
*06	078007	47
*07	021018	57
*08	000362	29
*09	074414	77
*10	066069	60
*11	081232	40
*12	071959	39
*13	072726	114
*14	068595	44
15	064517	1,3
16	063077	2,4
17	065630	0,0
18	030881	0,0
19	022778	1,8
20	084119	1,6
21	080657	2,5
22	074044	2,24
23	068182	2,46
24	031259	1,6
25	041566	1,5
26	071157	2,3
27	079814	0,0

Obs.: \*R<sub>C</sub>E<sub>2</sub> positivo > 3 fentomoles/mg proteína no citosol

TABELA 7 - Distribuição de freqüência das pacientes portadoras de câncer de mama ductal invasor, segundo a idade, o estadiamento clínico e a positividade do receptor citoplasmático estrogênico.

Idade	R.E <sub>2</sub> C	Estadiamento Clínico								Total	
		I		II		III		IV		nº	%
		nº	%	nº	%	nº	%	nº	%		
31-35	Positivo	0	(0)	1	(5,3)	0	(0)	1	(50,0)	2	(7,4)
	Negativo	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
36-40	Positivo	0	(0)	1	(5,3)	0	(0)	0	(0)	1	(3,7)
	Negativo	0	(0)	3	(15,8)	0	(0)	0	(0)	3	(11,1)
41-45	Positivo	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
	Negativo	0	(0)	0	(0)	0	(0)	1	(50,0)	1	(3,7)
46-50	Positivo	0	(0)	0	(0)	1	(20,0)	0	(0)	1	(3,7)
	Negativo	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
51-55	Positivo	0	(0)	3	(15,8)	0	(0)	0	(0)	3	(11,1)
	Negativo	0	(0)	2	(10,5)	2	(40,0)	0	(0)	4	(14,8)
56-60	Positivo	0	(0)	2	(10,5)	0	(0)	0	(0)	2	(7,4)
	Negativo	0	(0)	1	(5,3)	0	(0)	0	(0)	1	(3,7)
61-65	Positivo	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
	Negativo	0	(0)	1	(5,3)	0	(0)	0	(0)	1	(3,7)
66-70	Positivo	1	(100,0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
	Negativo	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
> 70	Positivo	0	(0)	3	(15,8)	1	(20,0)	0	(0)	4	(14,8)
	Negativo	0	(0)	2	(10,5)	1	(20,0)	0	(0)	3	(11,1)
TOTAL		1		19		5		2		27	
			(3,7%)		(70,4%)		(18,5%)		(7,4%)		(100,0%)

TABELA 8- Distribuição de freqüência das pacientes portadoras do câncer de mama ductal invasor, segundo a paridade e a positividade do receptor citoplásmico estrogênico.

R <sub>c</sub> E <sub>2</sub>	Paridade								Total	
	Nulípara		Primípara		Secundípara		Multípara			
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	Nº	%
Posi tivo	3	(23,1)	1	(7,7)	2	(15,4)	7	(53,8)	13	(100,0)
Nega tivo	1	(8,3)	3	(25,0)	2	(16,7)	6	(50,0)	12	(100,0)
Total	4		4		4		13		25	
		(16,0)		(16,0)		(16,0)		(52,0)		(100,0)

$R_c E_2$  negativo.

Na tabela 9, encontram-se os dados que relacionam a amamentação com a positividade do  $R_c E_2$ . Verifica-se que das 6 pacientes que não amamentaram, 4 foram  $R_c E_2$  positivo e 2  $R_c E_2$  negativo e das 19 pacientes que amamentaram, 9 foram  $R_c E_2$  positivo e 10  $R_c E_2$  negativo, demonstrando um equilíbrio na frequência da positividade do  $R_c E_2$ .

O material apresentado na tabela 10, mostra que das 8 biópsias de pacientes no menacme, 4 foram  $R_c E_2$  positivo e 4  $R_c E_2$  negativo. Nas 19 menopausadas a positividade esteve presente em 10 biópsias.

A diferenciação histológica do tumor e a positividade do  $R_c E_2$ , tabela 11, evidenciam que os tumores diferenciados tendem a ser  $R_c E_2$  positivo e os indiferenciados  $R_c E_2$  negativo. Nos tumores diferenciados num total de 16 casos o número de  $R_c E_2$  positivo foi de 12 (75%), nos moderadamente diferenciados um total de 8 casos, somente 2 foram  $R_c E_2$  positivo (25%) e nos indiferenciados em 3 casos todos foram  $R_c E_2$  negativo (0% de positividade).

Quanto à celularidade tumoral, na tabela 12, observa-se que dos 14 casos hipercelulares, 9 casos foram  $R_c E_2$  positivo (64,3%) ao passo que dos 13 tumores hipocelulares, somente 5 foram  $R_c E_2$  positivo (35,7%).

TABELA 9 - Distribuição de freqüência das pacientes portadoras do câncer de mama ductal invasor, segundo a amamentação e a positividade do receptor citoplásmico estrogênico.

R <sub>C</sub> E <sub>2</sub>	Amamentação				Total	
	Não amamentaram		Amamentaram		Nº	%
	nº	%	nº	%	Nº	%
Positivo	4	(30,8)	9	(69,2)	13	(100,0)
Negativo	2	(16,7)	10	(83,3)	12	(100,0)
Total	6		19		25	
		(24,0)		(76,0)		(100,0)

TABELA 10-Distribuição de freqüência das pacientes portadoras do câncer de mama ductal invasor, segundo o estado menstrual e a positividade do receptor citoplásmico estrogênico.

R <sub>C</sub> E <sub>2</sub>	Estado Menstrual				Total	
	Menacme		Menopausa		Nº	%
	nº	%	nº	%		
Positivo	4	(28,6)	10	(71,4)	14	(100,0)
Negativo	4	(30,8)	9	(69,2)	13	(100,0)
Total	8		19		27	
		(29,6)		(70,4)		(100,0)

TABELA 11 - Distribuição de frequência das pacientes portadoras do câncer de mama ductal invasor, segundo o grau de diferenciação do tumor e a positividade do receptor citoplásmico estrogênico.

R <sub>c</sub> E <sub>2</sub>	Diferenciação Histológica .						Total	
	Diferenciado		Moderado diferenciado		Indiferenciado		Nº	%
	nº	%	nº	%	nº	%		
Positivo	12	(85,7)	2	(14,3)	0	(0)	14	(100,0)
Negativo	4	(30,8)	6	(46,2)	3	(23,0)	13	(100,0)
Total	16		8		3		27	
		(59,3)		(29,7)		(11,0)		(100,0)

TABELA 12 - Distribuição de freqüência das pacientes portadoras do câncer de mama ductal invasor, segundo a celularidade e a positividade do receptor citoplásmico estrogênico.

R <sub>C</sub> E <sub>2</sub>	Celularidade				Total	
	hipercelular		hipocelular		Nº	%
	nº	%	nº	%	Nº	%
Positivo	9	(64,3)	5	(35,7)	14	(100,0)
Negativo	5	(38,5)	8	(61,5)	13	(100,0)
Total	14		13		27	
		(51,9)		(48,1)		(100,0)

## DISCUSSÃO

No presente trabalho efetuamos a determinação dos receptores citoplásmicos estrogênicos nos carcinomas mamários de 27 pacientes, com a finalidade de que estas pudessem se beneficiar com um tratamento coadjuvante mais adequado, aumentando a sua possibilidade de resposta clínica positiva ao tratamento endócrino.

Quando a manipulação endócrina é feita de maneira aleatória, sabe-se que 30% das pacientes respondem positivamente ao tratamento. Entretanto, quando se determina a concentração de receptores citoplásmicos estrogênicos é possível aumentar a probabilidade de respostas clínicas para a endocrinoterapia para 50 a 70%, ficando o percentual de respostas positivas, entre as pacientes com dosagens negativas para receptores citoplásmicos estrogênicos ao nível de 5%. Tais respostas seriam explicadas admitindo a possibilidade de resultados falsamente negativos (Lipmann & Alegria, 1978). Para tanto, poderiam contribuir o armazenamento incorreto da amostra, bem como, a realização do ensaio em condições inadequadas de temperatura. O excesso de tecido normal, a presença de sangue ou a quantidade excessiva de tecido adiposo seriam outros fatores capazes de alterar a relação receptor/proteína inespecífica interferindo no resultado. Além disso, os níveis plasmáticos de estrógenos acima de 150 pM (Panki &

McLeod, 1978) poderiam bloquear os receptores livres no citosol, tornando-os indetectáveis pelo estradiol marcado.

As neoplasias com determinações  $R_c E_2$  negativo, podem em pequena percentagem (5%), responder ao tratamento endócrino. A interpretação sugere que a negatividade poderia ser devida à ausência de receptores  $R_c E_2$  ou por valores falso negativos devidos às dificuldades técnicas (Howwonitz, 1981). Por outro lado alguns tumores  $R_c E_2$  positivo falham à manipulação hormonal (Stoll, 1977). Esta discordância entre a determinação do  $R_c E_2$  no tumor e a resposta clínica, poderá ser explicada pelos seguintes fatos: - foi demonstrado por Adams & Wong (1969), que certas células tumorais podem ter enzimas metabólicas ativas que conseguem inativar os hormônios administrados, tornando a terapêutica hormonal ineficaz, embora com determinações corretas do  $R_c E_2$  positivo. - O insucesso desse tratamento poderá também decorrer da heterogeneidade das células tumorais com relação ao conteúdo de receptores. - Também sabemos que os tumores possuem  $R_c E_2$  positivo e negativo em uma mesma população de células neoplásicas ( Nenci & cols, 1978). - Além disso, as células neoplásicas do carcinoma mamário podem não responder a endocrinoterapia, porque um passo distal à ligação inicial do hormônio ao receptor estrogênico foi alterado. Assim, se outros receptores esteróides fossem determinados, a integridade do controle hormonal na célula tumoral poderia ser melhor conhecida (King & Mainwang, 1974).

No material estudado a frequência de pacientes  $R_c E_2$  positivos foi de 51,9%. Esses resultados estão de acordo com a variação de 41 a 70% referida na literatura pertinente; Alegria & cols, 1979 (41 a 70%); Antunes, 1980 (72%); Brentani, 1981 (58%).

O conhecimento da presença do  $R_c E_2$  nos tumores primários é importante não só para a orientação clínica do tratamento, mas também como valor prognóstico. É sabido que nas pacientes com tumores  $R_c E_2$  positivo, o intervalo clínico livre da doença e a sobrevida são maiores do que nas com determinações de  $R_c E_2$  negativo (Maynard & cols, 1978).

Em nossos dados não encontramos indícios sugestivos de uma relação entre o estadiamento clínico no câncer de mama (*Union Internacional Contre le Cancer, 1973*) e a positividade do receptor citoplásmico estrogênico. Isto é, não houve tendência na nossa pequena amostra para que os tumores menores ou maiores que 3 cm, tivessem mais positividade de  $R_c E_2$ . Nossos dados estão de acordo com Maass, 1972; Spaeren, 1973 e Saez, 1975, embora Heuson & cols, (1975) tenham mostrado que há uma tendência para que os tumores de grande dimensão sejam  $R_c E_2$  negativo.

Quando tentamos correlacionar a capacidade total do citosol de ligar estrógeno e a idade da paciente ao tempo da mastectomia, verificou-se que não houve mais

positividade de  $R_c E_2$  para as pacientes abaixo de 45 anos. Os nossos dados são semelhantes aos encontrados na literatura pertinente (Saez & cols, 1978; Nagai & cols, 1979). As neoplasias da glândula mamária em pacientes jovens são de péssimo prognóstico, pois têm um alto grau de replicação celular. Alto grau de desdiferenciação do tecido mamário é acompanhado por valores baixos ou negativos de  $R_c E_2$ . No nosso material não parece haver diferença qualitativa quanto ao grau de replicação celular quando se considera as diferentes faixas etárias. Entretanto, o número de pacientes por faixa etária, é muito pequeno principalmente nas faixas mais baixas. O  $R_c E_2$  poderia ser um indicador bioquímico da desdiferenciação celular, pois os tumores  $R_c E_2$  negativo geralmente são associados com alto grau de replicação celular (Meyer & cols, 1977).

No que se refere à paridade e à amamentação, tentamos analisar a positividade dos  $R_c E_2$ , nas portadoras do carcinoma mamário, com a lactação e a paridade. Não encontramos nenhuma relação entre a tendência dos tumores virem a ser  $R_c E_2$  positivo com as carcinomatosas que amamentaram ou não, nulíparas ou múltíparas, apesar do pequeno número de casos estudados. Na literatura não há estudos correlacionando a positividade dos  $R_c E_2$  em tumores do carcinoma mamário com a paridade e a amamentação.

Na nossa amostra o estado menstrual parece não interferir na frequência de positividade do

$R_c E_2$ , posto que, esta foi semelhante nas pacientes no menacme e nas menopausadas. Esses achados estão de acordo com os de Nomura & cols, (1977). Entretanto, os níveis de  $R_c E_2$  foram mais elevados nas pacientes menopausadas, o que concorda com as observações de Heuson & cols, (1975); Saez & Meyer, (1977).

O trabalho de Heuson & cols, (1975) mostra que a negatividade do  $R_c E_2$  é semelhante nos tumores indiferenciados e moderadamente diferenciados, enquanto que a positividade de  $R_c E_2$  é associada aos tumores diferenciados. Os níveis elevados de concentrações de  $R_c E_2$  positivo não diferem entre os tumores diferenciados ou moderadamente diferenciados. O nosso material mostra uma certa tendência para que os tumores diferenciados e moderadamente diferenciados se correlacionem com maior probabilidade de ser  $R_c E_2$  positivo, enquanto que, os tumores indiferenciados venham a ser  $R_c E_2$  negativo. Os nossos dados estão concordantes com os de Maynard & cols, (1978).

No que concerne à celularidade dos tumores foi possível constatar que os tumores hipercelulares foram mais frequentemente  $R_c E_2$  positivo (64,3%), independentemente de outros fatores, sendo que nos hipocelulares a positividade de  $R_c E_2$  foi de 35%. Essas observações estão de acordo com as de Rosen & cols, (1975).

Embora a detecção dos  $R_c E_2$  seja uma variável importante e de valor prognóstico no carcinoma ma

mário, ela tem suas limitações, representadas principalmente pelo número de pacientes que não respondem ao tratamento endócrino, apesar de terem tumores  $R_c E_2$  positivo. Essa ausência de resposta clínica poderia ser explicada de forma ampla e geral por defeitos presentes na cadeia de acontecimentos bioquímicos que se iniciam pela ligação do estrógeno ao seu receptor específico.

A maioria dos autores na literatura aceita que a utilização de um indicador único, tem pouco valor para o prognóstico clínico do carcinoma mamário. A combinação do estadiamento clínico, idade, estado menstrual, localização do tumor, comprometimento de nódulos linfáticos, diferenciação do tumor e a positividade do  $R_c E_2$ , possibilita mais confiança no prognóstico (Maynard & cols, 1978).

Por outro lado a literatura pertinente mostra que a detecção de outros receptores poderia definir melhor os sub-grupos de pacientes, os quais sendo  $R_c E_2$  positivo, estariam também sob controle de outros hormônios (Horwitz & McGuire, 1975). Além disso, sendo o receptor de progesterona um provável produto da ação estrogênica, ele poderia ser um excelente marcador daqueles tumores nos quais, com maior probabilidade o controle endócrino foi mantido (Leclercq & cols, 1977). Assim, é de nosso interesse introduzir no futuro a utilização desse receptor, a fim de melhorar o critério de seletividade das pacientes que deverão ser submetidas à terapia endócrina.

## CONCLUSÕES

A positividade do  $R_c E_2$  no material estudado, composto de 27 casos de carcinoma ductal invasor foi de 51,9%.

A frequência de positividade do  $R_c E_2$  não foi influenciada pelos fatores idade, estadiamento clínico da doença, paridade, amamentação e estado menstrual.

A diferenciação histológica dos tumores relacionou-se diretamente com a positividade dos  $R_c E_2$ , mostrando uma tendência maior para a positividade nos tumores histologicamente diferenciados, ao passo que os indiferenciados foram todos  $R_c E_2$  negativo.

A celularidade é fator que pode influir na positividade dos  $R_c E_2$ .

## SUMÁRIO

Em 27 casos de carcinoma ductal invasor mamário foram determinadas as concentrações de receptores citoplásmicos estrogênicos ( $R_c E_2$ ) pela técnica do *carvão revestido com dextrana* (CRD) em preparações de citosóis com positividade de 51,9%.

Os casos foram analisados quanto à idade, paridade, amamentação, estado menstrual, estadiamento clínico e características histológicas.

Não houve maior positividade quanto aos parâmetros referidos, exceto as características histológicas, onde a diferenciação e a celularidade dos tumores foram fatores que demonstraram poder interferir na positividade dos  $R_c E_2$ .

SUMMARY

The concentration of estrogen cytoplasmic receptors ( $R_c E_2$ ) in 27 patients with invasive ductal breast cancer were determined, utilizing the *Dextran Coated Charcoal* (DCC) procedure in cytosol preparations. They were detected in 51.9%.

The patients age, parity, breast feeding, menstrual status, clinical stage and hystological features were analysed.

Except to hystological characteristic, there was no correlation between the positivity of  $R_c E_2$  and these parameters.

Indeed the tumor's cells differentiation and cell number were determinant factors that may interfere to  $R_c E_2$  positivity.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, J.B. & WONG, S.F.M. Desmolase activity of normal and malignant human breast tissue. J. Endocr. 44:69, 1969.

ALEGRA, J.C.; LIPPMAN, M.E.; THOMPSON, B.; SIMON, R.; BARLOCK, A.; GREEN, L. Distribution, frequency and quantitative analyses of estrogen, progesterone, androgens, and glucocorticoid receptors in human breast cancer. Cancer Res., 39:1447, 1979.

ANTUNES, R.J. Importância do ensaio de radioreceptor para estradiol no tratamento do câncer de mama. Jornal Brasileiro de Ginecologia, 88:173, 1979.

BARNES, D.M., RIBEIRO, G.G., SKINNER, I.G. Two methods for measurement of oestradiol 17  $\beta$  and progesterone receptors in human breast cancer and correlation with response to treatment. Eur.J. Cancer. 13:1133. 1977.

BARUFFI, I.. BIGHETTI, S.. GONDIM, F.C.P. Topographical study on sex chromatin in breast cancer. Tumori, 57:1, 1971.

BEATSON, G.T. On the treatment of inoperable cases of carcinoma of the mamma: Suggestions for a new method of treatment with illustrative cases. Lancet, ii:104, 1896.

BOYD, S. On oophorectomy in cancer of the breast. British Medical Journal, 2:1161, 1900.

BRENTANI, M.M.; NAGAI, M.A.; FUJIYAMA, C.T.; GOES, J.C.S. - Steroid receptors in a group of Brazilian breast cancer patients. Journal of Surgical Oncology, 18:431, 1981.

- CLARK, J.H. & PECK Jr. E.J. Steroid hormone receptors. In: MALLEY, B.O. & BIRUBAUMER, L. eds. Receptors and Hormone Action: Basic principles and measurement. New York, Academic Press, 1977. p. 383.
- COOPER, A.P. Lectures on the principles and practice of surgery. St. Thomas Hospital London, England, Wertley. 637, 1829.
- COWIE, A.T., & TINDAL, J.S., eds. The physiology of lactation. Baltimore, Williams & Wilkins, 1971. p. 151.
- EUROPEAN ORGANIZATION RESEARCH TREATMENT CANCER. Breast Cancer Cooperative Group: standards for the assessment of estrogen receptors in human breast cancer. Europ. J. Cancer, 9:379, 1973.
- ERDOS, T.; BEST-BELPOMME, M.; BESSADA, R. A rapid assay for binding estradiol to uterine receptors. Anal. Biochem., 37:247, 1970.
- FOULDS, L. Neoplastic Development, New York, Academic Press, 1969. v. 1.
- GLASCOCK, R.F. & HOEKSTRA, W.G. Selective accumulation of tritium-labelled hexoestrol by the reproductive organs of immature female goats and sheep. Biochem J., 72:673, 1959.
- GORSKI, J.; D.; SHYAMALA, G.; SMITH, D.; NOTIDES, A. Hormone receptors: studies on the interaction of estrogen with the uterus. Rec. Progr. Hormone Res., 24:45, 1968.

HEUSON, J.C.; LECLERCQ, G.; LONGEVAL, E.; DEBOEL, M.C.; HEIMANN, R.; MATTEHIM, W.H. Estrogen Receptors significance in breast cancer. In: McGUIRE, W.L.; CARBONE, P.P. & VOLMER, E.P., eds. Estrogen Receptors in Human Breast Cancer. New York, Raven Press, 1975. p.57.

HORWITZ, K.B. & McGUIRE, W.L. Specific progesterone receptors in human breast cancer. Steroids, 25:497, 1975.

HOWWONITZ, J.H. Current topics: hormone receptors and breast cancer. Human Pathology, 12:1057, 1981.

INTERNATIONAL UNION AGAINST CANCER. Supplement to TNM classification of malignant tumors. Breast, Geneva, 1973. p.4.

JENSEN, E.V. & JACOBSON, H.I. Fate of steroid estrogens in target tissues. In: PINCUS, G. & VOLLMER, E.P. eds. Biological activities of steroids in relation to cancer. New York, Academic Press, 1960. p. 161.

KATZENELLENBOGEN, B.S. Dynamics of steroid hormone receptor action. Ann. Rev. Physiol., 42:17, 1980.

X KATZENELLENBOGEN, B.S.; BHAKOO, S.; FERGUSON, E.R.; NANCY, C.; TATEE, T.; KATZENELLENBOGEN, J.A. Estrogen and antiestrogen action. Recent Progress in Hormone Research. 34:259, 1979.

KING, R.J.B. Intracellular reception of steroid hormones: Essays. Biochem., 12:41, 1976.

KING, R.J.B. & MAINWARING, W.I.P. Steroid cell interactions. Baltimore, Park Press, 1974. p.1:

KORENMAN, S.G. & DUKES, B.A. Specific estrogen binding by the cytoplasm of human breast carcinoma. *J.Clin. Endocr. Metab.*, 30:659, 1970.

LECLERCQ, G.; HEUSON, J.C.; DEBOEL, M.C.; LEGROS, N.; LONGEVRALE, E.S.; MATTHEIM, W.H. Estrogen and progesterone receptors in human breast cancer. In: McGUIRE, W.L.; RAYNAUD, J.P., BAULIEU, E.E., eds. Progesterone receptors in normal and neoplastic tissues. New York, Raven Press, 1977. p.205.

LECLERCQ, G.; HEUSON, J.C.; SCHAENFELD, R.; MATTHEIM, W.H.; TAGNON, H.J. Estrogen receptors in human breast cancer. *Europ.J.Cancer*, 9:665, 1973.

LIPPMAN, M.E.; ALEGRA, J.C. Estrogen receptors and endocrine therapy of breast cancer. *The New England Journal of Medicine*, 299:930, 1978.

LOWRY, O.H.; ROSENBRUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265, 1951.

LYONS, W.R.; KI, C.H.; JOHNSON, R.E. The hormonal control of mammary growth and lactation. *Recent Prog.Hormone Res.*, 14:219, 1958.

MASS, H.; ENGEL, B.; HOHMEISTER, H.; LEHMANN, F.; RANS, G. Estrogen receptors in human breast cancer tissue. *Am. J. Obstet.Gynecol.*, 113:377, 1972.

MAYNARD, P.V.; BLAMEY, R.W.; ELSTON, C.W.; HAYBITTLE, J.L.; GRIFFITHS, K. Oestrogen receptor assay in primary breast cancer and early recurrence of the disease. *Cancer Res.*, 38:4292, 1978.

MCCARTY Jr., K.; BARTON, T.K.; FETTER, B.F.; WODARD, B.H.; MOSSLER, J.A. Correlation of estrogen and progesterone receptors with histologic differentiation in mammary carcinoma. *Cancer*, 46:2851, 1980.

MCGUIRE, W.L. Estrogen receptors in hormone breast cancer. *J. Clin. Invest.*, 52:73, 1973.

MCGUIRE, W.L.; CARBONE, P.P.; SEARS, M.E. Estrogen receptors in human breast cancer: an overview. In: MCGUIRE, W.L., CARBONE, P.P.; VOLLMER, E.P., eds. Estrogen receptors in human breast cancer. New York, Raven Press, 1975. p.17.

MCGUIRE, W.L. & DE LA GARZA, M. Improved sensitivity in the measurement of estrogen receptor in human breast cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 37:986, 1973.

MEYER, J.S.; RAO, B.R.; STEVENS, S.C.; WHITE, W.L. Low incidence of estrogen receptor in breast carcinomas with rapid rates of cellular replication. *Cancer*, 50:2290, 1977.

MIRRA, P.A. Cancer incidence in São Paulo country, 1969; In Cancer Registry of São Paulo. Divisão Nacional de Cancer do Ministério da Saúde. Brasilia, 1969.

MULLER, G.C.; VANDERHAAR, B.; KONN, U.H.; MAHIEN, M.L. Estrogen action: an inroad to cell biology. *Recent Prog. Hormone Res.*, 28:147, 1972.

MURPHY, B.E.P., CAN, J. Binding of testosterone and estradiol in plasma. *Can. J. Biochem.* 46:229, 1968.

- NAGAI, R.; KATAOKA, M.; KOBAYASHI, S.; ISHIKARA, K. Estrogen and progesterone receptors in human breast cancer with concomitant assay of plasma  $17\beta$ -estradiol, progesterone and prolactin levels. *Cancer Res.* 39:1835, 1979.
- NENCI, I.; BECCATI, M.D.; PAGNINI, C.A. Estrogen receptors and post-receptors markers in human breast cancer: a reappraisal. *Tumori*, 64:161, 1978.
- NOMURA, Y.; KOBAYASHI, S.; TAKATAM, O.; SUZANO, H.; MATSUMOTO, K.; McGUIRE, W.L. Estrogen receptors and endocrine responsiveness in japonese versus american breast patients. *Cancer Res.* 37:106, 1977.
- OSBORNE, C.K. & McGUIRE, W.L. The use of steroid hormone receptors in the treatment of the human breast cancer: a review. *Bull.Cancer*, 66:203, 1979.
- PANK, W.B. & McLEOD, R.M. Uncharged nuclear receptors for estrogen in breast cancers. *Cancer Res.* 38:1948, 1978.
- PECK, Jr., E.J.; BURGNER, J. CLARK, J.H. Estrophillic binding sites of the uterus: relation to uptake and retention of estradiol in vitro. *Biochemistry*, 12:4596, 1973.
- PISANI, R. & PINOTTI, J.A. Receptores de estrógenos. In: PINOTTI, J.A.; ed. *Diagnóstico em mastologia*. São Paulo, Manole, 1980. p. 167.
- ROCHEFORD, H. & BAULEU, E.E. New in vitro studies of estradiol binding in castrated rat uterus. *Endocrinology*, 84:108, 1969.

ROSEN, P.P.; MENENDEZ-BOTTET, C.J.; NISSILBAUM, J.S.; URBAN, J.A.; MIKE, V.; FRACCHIA, A.; SCHIWARTZ, M.K. Pathological review of breast lesions analysed for estrogen receptor protein. *Cancer. Res.*, 35:3187, 1975.

SAEZ, S.; CHOUVET, C.; C. SAKAI, F.; MAYER, M.; COLON, J. Les recepteurs d'uestradiol dans le cancer mammaire chez la femme. In: NAMES, M. et LABAUNE, C.M. eds. *Hormones and Breast Cancer*. Paris, Inserm, 1975, v.55, p.45.

SAEZ, S.; MARTIN, P.M.; CHOUVET, C.D. Estradiol and progesterone levels in human breast adenocarcinoma in relation to plasma estrogen and progesterone levels. *Cancer. Res.* 38:3468, 1978.

SAEZ, S. & MEYER, M. Facteurs hormonaux de prévision d'hormono dépendence du cancer du sein. *Bull.Cancer*, 64:557, 1977.

SCATCHARD, G. The attraction of proteins for small molecules and ions. *Ann. N.Y. Acad.Sci.*, 51:660, 1949.

SCHINZINGER, A. Über carcinoma mammae. *Verhandlungen den Gesellschaft für Chirurgie*, 18:28, 1889.

SHIMKIN, M.B. Epidemiology of breast cancer In: GRIEM, M.L.; JENSEN, E.V.; ULTMANN, J.E.; WISSLER, R.E.; eds. *Breast Cancer: a challenging problem*. Berlin, Springer-Verlag, 1973. p.6.

SOLOFF, M.S.; CREANGE, J.E.; POTTS, G.O. Unique estrogen-binding properties of rat pregnancy plasma. *Endocrinology*. 88:427, 1971

SOUZA, A.Z. & SALVATORE, C.A. Mastologia prática. São Paulo, Manole, 1979.

SPAEREN, V.; OLSNER, S.; BREMHÖRD, I.; EFSKIND, J.; PINIL, A. Content of estrogen receptors in human breast cancers. Europ.J.Cancer. 9:353, 1973.

STOLL, B.A. False positive estrogen receptor assay in breast cancer. Lancet ii:296, 1977.

TORLONI, H. & BRUMIM, R. Registro nacional de tumores. Rio de Janeiro, Ministério da Saúde, Divisão de Moléstia Crônicas e Degenerativas, 1978.

TRÓCOLI, V.; BARUFFI, I.; AUGUSTO, N.; LIMA FILHO, E.C.L. Complicações decorrentes da poliquimioterapia profilática e paliativa na terapêutica do carcinoma da mama. Jornal Bras. Ginec., 87:159, 1979.