



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA**

**CARCINOMA INVASIVO DE MAMA TRIPLO NEGATIVO COM
IMUNOFENÓTIPO BASAL E NÃO-BASAL**

Darley de Lima Ferreira Filho

RECIFE
2016

Darley de Lima Ferreira Filho



+

**CARCINOMA INVASIVO DE MAMA TRIPLO NEGATIVO COM
IMUNOFENÓTIPO BASAL E NÃO-BASAL**

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Cirurgia.

Orientador Interno

Prof. Dr. Alvaro Antonio Bandeira Ferraz

Prof. Titular do Depto de Cirurgia do CCS, UFPE

Orientadora Externa

Profa. Dra. Maria do Carmo C. Abreu e Lima

Profa. Associado do Depto de Patologia do CCS, UFPE

Linha de Pesquisa

**Patologia e epidemiologia das doenças neoplásicas e
do desenvolvimento**

RECIFE
2016

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4 1010

F383c Ferreira Filho, Darley de Lima.
Carcinoma invasivo de mama triplo negativo com imunofenótipo basal e não-basal / Darley de Lima Ferreira Filho. – 2016.
106 f.: il.; tab.; quad.; 30 cm.

Orientador: Álvaro Antonio Bandeira Ferraz.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-graduação em Cirurgia. Recife, 2016.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Câncer de mama. 2. Neoplasias de mama triplo negativas. 3. Metástase neoplásica. 4. Neoplasia por tipo histológico. 5. Receptor de progesterona. I. Ferraz, Álvaro Antonio Bandeira (Orientador). II. Título.

617.91

CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2017-116)

Darley de Lima Ferreira Filho

**CARCINOMA INVASIVO DE MAMA TRIPLO NEGATIVO COM
IMUNOFENÓTIPO BASAL E NÃO-BASAL**

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Cirurgia.

Defendida e aprovada em: 19 de Dezembro de 2016

BANCA EXAMINADORA

1ª Examinador. Prof Dr ALVARO ANTONIO BANDEIRA FERRAZ

2ª Examinador Prof Dr EUCLIDES DIAS MARTINS FILHO

3ª Examinador Prof Dra LUCIANA TEIXEIRA SIQUEIRA

4ª Examinador Prof Dr JOSE GUIDO CORREIA DE ARAUJO JUNIOR

5ª Examinador Prof Dra DANYELLY BRUNESKA GONDIM MARTINS

Recife
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

REITOR

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Profa. Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DIRETOR

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DIRETOR SUPERINTENDENTE
Dr. Frederico Jorge Ribeiro

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
CHEFE

Prof. Sílvia da Silva Caldas Neto

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA
NÍVEL MESTRADO E DOUTORADO

COORDENADOR

Prof. Rodrigo Pessoa Cavalcanti Lira

VICE-COORDENADOR

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

CORPO DOCENTE

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

Prof. Carlos Teixeira Brandt

Prof. Euclides Dias Martins Filho

Prof. Fernando Ribeiro de Moraes Neto

Prof. Flávio Kreimer

Profa. Flávia Cristina Morone Pinto

Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar

Prof. Josemberg Martins Campos

Prof. Salvador Vilar Correia Lima

Prof. Sílvia da Silva Caldas Neto

Prof. Thiago Freire Pinto Bezerra

Aos meus pais, pela minha educação e apoio durante toda minha vida, o meu muito obrigado

Darley e Ilda Ferreira,

A minha querida e amada esposa, pela paciência e compreensão durante esta minha tese

Dra. Nancy Ferreira

As lindas filhas

Marina e Thais Ferreira

que sempre apoiaram e deram todo carinho durante toda jornada do meu doutorado.

A amiga e grande patologista

Dra. Maria do Carmo de Abreu e Lima,

pela ajuda e ensinamento durante toda esta trajetória.

AGRADECIMENTOS



Ao amigo e um verdadeiro colega pelo apoio e incentivo durante minha pesquisa. O meu muito obrigado ao

Prof. Dr. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz.

A amiga e orientadora

Profa. Dra. Maria do Carmo C. Abreu e Lima,

pela sua paciência, atenção e ensinamentos.

Em nome dos colegas do LIKA, do

Prof. Dr. José Luis e da ***Profa. Dra. Danielly Bruneska,***

pelo incentivo e dedicação à pesquisa

RESUMO



Objetivos: O objetivo do estudo foi correlacionar o estadiamento pós-cirúrgico e a evolução clínica em um período de 3 anos com as características histopatológicas e imunoistoquímicas considerados fatores prognósticos e/ou preditivos nas pacientes em tratamento de câncer de mama do tipo triplo-negativo do Hospital Barão de Lucena. **Método:** O estudo foi feito com 125 pacientes do sexo feminino portadoras de câncer de mama triplo negativo e que foram submetidas a tratamento cirúrgico no serviço de mastologia do Hospital Barão de Lucena no período de 2009 a 2012. Nessas pacientes, foram estudadas as características clínicas e patológicas dos tumores e correlacionadas com os subtipos basal e não-basal. A análise descritiva dos dados foi feita através de tabelas e/ou gráficos para variáveis qualitativas. Para análise de associação foi utilizado o teste Qui-quadrado para independência. Nas tabelas que apresentaram frequência esperada menor que 5, em mais de 20% das caselas, foi utilizado o teste Exato de Fisher. Além disso, foi calculada a razão de chance (OR) e o intervalo de confiança para OR. Em toda a análise foi considerado nível de significância de 5%. **Resultados:** A média de idade foi de 49 anos, com relação a raça, tivemos a cor negra em 83 (66,4%). O tipo histológico mais comum foi o ductal em 111 (88,8%). O estágio patológico I/II foi o mais comum em 87 (69,6%) das pacientes. Em 71 (56,8%) pacientes não demonstraram comprometimento axilar. O Birads IV foi evidenciado em 60 (63,3%) das pacientes do tipo basal e em 22 (36,7%) no não-basal. Com relação ao tipo de cirurgia, a cirurgia conservadora foi utilizada em 57 (45,6%), desde setorectomia a técnicas de oncoplastia. A recorrência esteve presente em 30, sendo basal em 16 (53,3%) das pacientes e 14 (46,7%) no não-basal, onde a metástase óssea foi a mais frequente. **Conclusão:** O subtipo basal e não basal, além de serem entidades distintas, têm implicação significativa no pior prognóstico e sobrevida. No *follow up* de três anos o fator de prognóstico que mais influenciou o subtipo basal e não-basal nas pacientes com tratamento de câncer de mama foram a idade abaixo de 40 anos, o tipo histológico, a citoqueratina CK5/6 e com grau de significância maior dos fatores EGFR e KI-67.

Palavras-chave: Câncer de mama. Neoplasia de mama Triplo-negativo. Metástase neoplásica. Neoplasia por tipo histológico. Receptor de progesterona negativo.

ABSTRACT



Objectives: The objective of the study was to compare the postoperative staging and clinical developments outcomes in a period of three years with the histopathological and immunohistochemical characteristics considered prognostic factors and or predictive in patients being treated for triple negative type of breast cancer Barão de Lucena Hospital. **Method:** A descriptive analysis of data was done through tables and or graphics for qualitative variables. For association analysis was performed using chi-square test for independence. In the tables that showed less than 5 expected frequency by more than 20% of cells, we used Fisher's exact test. In addition, it calculated the odds ratio (OR) and the confidence interval for OR. Throughout the analysis was 5% significance level. The study was conducted with 125 female patients suffering from triple negative breast cancer who underwent surgical treatment in mastology service Barão de Lucena Hospital from 2009 to 2012. These patients were studied the clinical and pathological features of the tumors and correlated with basal and non-basal subtypes. **Results:** The average age was 49 years , with respect to race, we had the black color in 83 (66,4%). The most common histological type was ductal in 111 (88.8%). The pathological stage I / II was the most common in 87 (69.6%) of pacientes. In 71 patients (56.8%) showed no metastasis axilar. The Birads IV commitment was evidenced in 60 (63.3%) patients the basal-like and in 22 (36.7%) in the non basal. With the type of surgery, conservative surgery was performed in 57 (45.6%) from the setorectomia until oncoplastic surgery. The recurrence techniques were present in 30, and Basal in 16 (53.3%) patients and 14 (46.7%) in the non-basal, where bone metastasis were the mostfrequent. **Conclusion:** The basal and non basal subtype besides distint entities has significant implications in the worst prognosis and survive of the patients. At follow up three years' prognostic factor that most influenced the basal and non-basal subtype in patients with treatment of breast cancer were age below 40 years, histological type, cytokeratin CK5 / 6 and degree of significance EGFR and most of the factors KI-67.

Keyword: Breast cancer. Neoplasm breast triple-negative. Metastasis neoplasm. Neoplastic type histologic. Receptor progesterone.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES



Figura 1	Levantamentos do Projeto GLOBOCAM de câncer de mama na América Latina	16
Figura 2	Incidência de câncer de mama no Brasil	20
Figura 3	Arquitetura da mama normal.	22
Figura 4	Eventos patológicos envolvidos no processo de neoplasia mamária ductal	23
Figura 5	Classicamente, as lesões hiperplásicas evoluem para carcinoma ductal <i>in situ</i> e estes para infiltrativos	23
Quadro 1	Classificação dos fatores de prognóstico do câncer de mama	26
Figura 6	Tipos moleculares do carcinoma mamário	34
Figura 7	Determinar a positividade ou negatividade da reação	36
Figura 8	Interpretação do escore do HER-2	38
Quadro 2	Sistema TNM para estadiamento do câncer de mama	43
Quadro 3	Estadiamento do câncer de mama segundo o sistema TNM	44
Quadro 4	Principais testes genéticos	48
Quadro 5	Recomendações de indicação de assinatura genética	48
Figura 9	Análise de sobrevida dos pacientes segundo a faixa etária	59
Figura 10	Análise de sobrevida dos pacientes segundo o EGFR	59
Figura 11	Análise de sobrevida dos pacientes segundo o estadiamento patológico	60
Figura 12	Distribuição dos pacientes segundo a faixa etária e o subtipo	60
Figura 13	Distribuição dos pacientes segundo a raça e o subtipo.	61
Figura 14	Distribuição dos pacientes segundo a situação do CK5/6 e o subtipo	61
Figura 15	Distribuição dos pacientes segundo a situação do EGFR e o subtipo	61
Figura 16	Distribuição dos pacientes segundo o tipo de cirurgia e o subtipo.	62
Figura 17	Distribuição dos pacientes segundo Metastase e o subtipo.	62

Figura 18	Distribuição dos pacientes segundo o Estadiamento patológico e o subtipo	63
Figura 19	Distribuição dos pacientes segundo a Histologia e o subtipo	63
Figura 20	Distribuição dos pacientes segundo o tipo histológico e o subtipo	63
Figura 21	Distribuição dos pacientes segundo o Birads e o subtipo	64
Figura 22	Distribuição dos pacientes segundo o número de linfonodos e o subtipo	64

LISTA DE TABELAS



Tabela 1	Distribuição de frequência dos fatores de perfil pessoal e clínico dos pacientes e tabela de contingência com o subtipo do carcinoma.	57
Tabela 2	Modelo Logístico para o subtipo segundo os fatores pessoais e clínicos dos pacientes	58
Tabela 3	Teste de comparação da sobrevida entre o perfil pessoal e clínico dos pacientes avaliados	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS



ACOSOG Z0010	<i>Association of Occult Metastases in Sentinel Lymph Nodes and Bone Marrow With Survival Among Women With Early-Stage Invasive Breast Cancer</i>
AJCC	<i>American Joint Committee on Cancer</i>
BI-RADS	<i>Breast Imaging Reporting and Data System (0 a V)</i>
CDI	carcinoma ductal invasivo
CKS (5/6)	citoqueratinas
CLI	carcinoma lobular invasivo
DCIS	<i>Ductal carcinoma in situ</i>
ECCO	European Cancer Organization
EGFR	receptor do fator de crescimento epidérmico
EORTC	<i>European Organisation for Research and Treatment of Cancer</i>
ESMO	<i>European Society for Medical Oncology</i>
FISH	<i>Fluorescence in situ hybridization</i>
HBL	Hospital Barão de Lucena
HE	Hematoxilina eosina
HER2	receptor do fator de crescimento epidérmico humano tipo 2
IHQ	Imunohistoquímica
INCA	Instituto Nacional de Câncer - INCA
LS	linfonodo sentinela
NCHG	<i>Nottingham Combine Histológico Grade</i>
NIH	<i>National Institutes of Health</i>
NSABP	<i>National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAM 50	gene signature measures the expression levels of 50 genes
PCR	resposta patológica completa

RE	receptores de estrógeno
RH	receptor hormonal
RP	receptor progesterona
RT-PCR	Reverse transcription polymerase chain reaction
SBR	Staff, Bloom Richardson
SEER	<i>Suveillance, Epidemiology and End Results</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TNM	tamanho do tumor, nódulo axilar e metástase
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO



1	INTRODUÇÃO	15
1.1	Caracterização do problema	15
1.2	Justificativa do estudo	18
1.3	Definição dos objetivos	18
1.3.1	Objetivo geral	18
1.3.2	Objetivos específicos	18
2	REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1	Epidemiologia	19
2.2	História natural do câncer de mama	22
2.3	Fatores prognóstico	25
2.3.1	<i>Tamanho do tumor</i>	26
2.3.2	<i>Envolvimento linfonodal</i>	27
2.3.3	<i>Tipo histológico</i>	29
2.3.4	<i>Idade</i>	30
2.3.5	<i>Grau histológico</i>	31
2.3.6	<i>Aspectos Moleculares</i>	33
2.3.7	<i>Receptores hormonais</i>	35
2.3.8	<i>Oncogene HER2</i>	37
2.3.9	<i>Fatores indicativos de proliferação</i>	39
2.3.10	<i>Estadiamento</i>	41
2.3.11	<i>Tumores triplo-negativo</i>	44
2.3.12	<i>Perfil genômico</i>	46
3	PACIENTES E MÉTODOS	49
3.1	Local do estudo	49
3.2	População do estudo	49
3.3	Desenho do estudo	49
3.4	Critérios e procedimentos para seleção dos pacientes	50

3.4.1	<i>Critérios de inclusão</i>	50
3.4.2	<i>Critérios de exclusão</i>	50
3.5	Definição das variáveis	50
3.6	Método de coleta	51
3.7	Análise estatística	52
3.8	Considerações éticas	53
4	RESULTADOS	54
5	DISCUSSÃO	65
6	CONCLUSÃO	75
	REFERÊNCIAS	76
	APÊNDICES	95
	APÊNDICE A – Ficha Clínica	95
	APÊNDICE B – Trabalho para submissão	97
	ANEXOS	98
	ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos	98
	ANEXO B – Trabalho de Revisão Publicado	99



INTRODUÇÃO

1.1 Caracterização do problema

O câncer de mama é uma doença de liderança no mundo em termos de incidência e mortalidade em mulheres. A cada ano que passa, tem sido observado um aumento da incidência desta doença. Nos últimos anos as pesquisas tiveram uma grande evolução, porém o problema ainda é devastador. O número de casos de câncer vem aumentando em todo o mundo. Porém, a incidência e a mortalidade por esta causa apresentam diferenças relevantes segundo as regiões geográficas^(1,2).

Nos últimos anos estimam a ocorrência de 1 milhão de casos de câncer de mama e que acima de 9% das mulheres desenvolverão a doença durante suas vidas. A maior parte dos casos ocorre em países desenvolvidos, tendo a Holanda maior incidência (90,2/100.000), seguido pelos Estados Unidos com taxa de (86,9/100.000). Conforme relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS), a mortalidade global no ano de 2007 foi de cerca 548.000 óbitos, dos quais, 72% ocorreram em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento *World Health Organization* (WHO)⁽³⁾. Em 2015, são estimados 231.840 novos casos de câncer de mama invasivo e são esperados 60.290 casos novos de carcinoma ductal *in situ*. Aproximadamente 40.290 mulheres americanas irão morrer de câncer de mama nesse ano. Nestes países, tanto a incidência como a mortalidade elevaram-se consideravelmente devido ao envelhecimento populacional, mudanças nos padrões reprodutivos, maior exposição aos fatores de risco e problemas relacionados ao acesso oportuno para detecção e diagnóstico precoce bem como para tratamento adequado⁽⁴⁾.

O câncer de mama figura como o segundo mais comum no mundo e a mais frequente neoplasia a acometer a população feminina, compreendendo 16% de todos os cânceres documentados em mulheres causando, só em 2004, tiveram aproximadamente 519.000 óbitos

nas mulheres. Levantamento do Projeto Globocam reportou 11.5000 novos casos de câncer de mama na América Latina em 2008. É a neoplasia maligna que mais incide em mulheres em países desenvolvidos e de alguns em desenvolvimento⁽⁵⁾ (Figura 1).

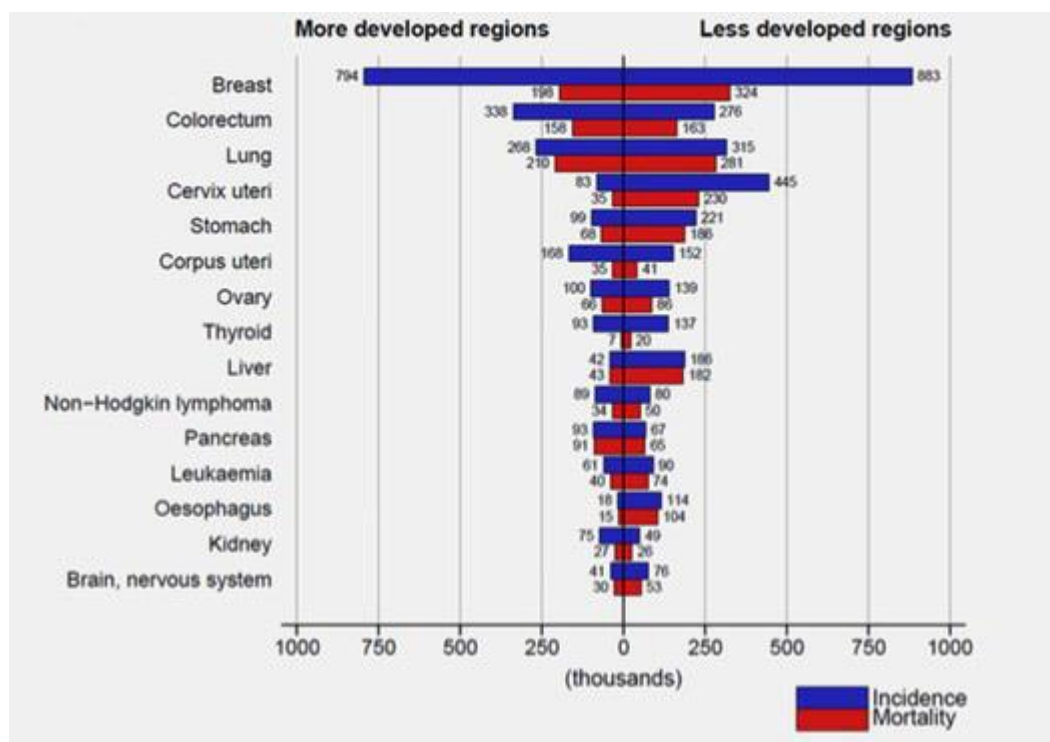


Figura 1. Levantamentos do Projeto Globocam de câncer de mama na América Latina⁽⁵⁾

A detecção precoce do câncer de mama é fator decisivo na determinação do prognóstico. Os estudos epidemiológicos em diferentes regiões do Brasil são importantes para o desenvolvimento de melhores programas de prevenção e rastreamento.

O câncer de mama é uma doença que não possui sintomas e sinais patognomônicos. A doença manifesta-se sob diversas formas clínico-patológicas, o que por vezes pode dificultar o seu diagnóstico em fases iniciais. Para que haja a detecção precoce do câncer de mama deve-se realizar o exame clínico das mamas e a mamografia. O diagnóstico precoce da neoplasia permite que o tratamento seja instituído em tempo hábil, o que ocasiona a redução da mortalidade⁽⁶⁾. A maioria desses tumores é derivada das células: da unidade ducto-lobular terminal da glândula mamária, luminais secretoras e/ou basais e mioepiteliais⁽⁷⁾.

Caracterizam-se como neoplasias heterogêneas, com alguns subtipos histopatológicos, além de apresentações clínicas diferentes com diversas variações de resposta ao tratamento^(8,9).



Um dos maiores desafios para o estudo e tratamento do carcinoma de mama é sua heterogeneidade tumoral⁽¹⁰⁾. A atual classificação histológica dos carcinomas invasivos da mama da OMS, representa uma extensa lista da qual os tipos histológicos mais frequentes são o carcinoma ductal invasivo (50 a 75%) e carcinoma lobular invasivo (5 a 15%). Os restantes, considerados tipos especiais, são menos frequentes e incluem o carcinoma tubular, mucinoso, medular e metaplásico, entre outros⁽¹¹⁾.

O grau de diferenciação histológica também é uma medida de grande utilidade na clínica e reflete o potencial de malignidade do tumor, indicando a sua maior ou menor capacidade de metastatização. Segundo a OMS os tumores classificam-se em: grau I (bem diferenciado), grau II (moderadamente diferenciado) e grau III (pouco diferenciado)⁽¹²⁾. A classificação anatomopatológica é insuficiente para caracterizar os carcinomas de mama, uma vez que os tumores com mesmo grau, estágio e tipo histológico podem apresentar diferentes prognósticos e resposta à terapia⁽¹³⁾.

Os tumores triplo-negativos são aqueles que, somados a uma macro e molecular características, são negativos para receptores de estrogênio, de progesterona e HER-2. Além disso, para serem considerados “carcinomas basais” devem ser positivos para os anticorpos que identificam este grupo celular, que apresentam um pior prognóstico. Os tumores triplo-negativos ocorrem em torno de 10 a 20% do câncer invasivo de mama, sendo mais prevalente na pré-menopausa⁽¹⁴⁾. Esses tumores são conhecidos por terem pobre resultado com o uso da hormonioterapia, com altas taxas de recorrências e sobrevida inferior, como também apresentam características histológicas desfavoráveis, tais como a pobre diferenciação e grau histológico aumentado⁽¹⁵⁾.

Devido à heterogeneidade dos tipos tumorais e suas características morfológicas e da biologia molecular através da imunohistoquímica, existe uma dificuldade para estabelecer uma relação entre os achados clínicos e sua avaliação prognóstica, no grau de recorrência que pode levar com o passar dos anos após o tratamento adjuvante.



1.2 Justificativa do estudo

Estudos demonstram o valor prognóstico e/ou preditivo dos exames histopatológico ou imunohistoquímico na definição do tratamento adequado do câncer de mama^(13,15). Em nossa região não há estudos institucionais correlacionando os tumores triplo-negativo com o imunofenótipo basal e não-basal, e com suas prováveis implicações prognósticas. O subtipo de tumores triplo-negativo pouco compreendido, sendo atualmente alvo de intensa pesquisa, sobretudo nos grandes centros. Aparentemente constitui grupo de tumores heterogêneos, nem sempre de pior prognóstico a despeito da não resposta a tratamento hormonal e a terapia alvo.

1.3 Definição dos objetivos

1.3.1 Objetivo geral

Analisar os carcinomas invasivos da mama triplo-negativo de imunofenótipos basal – *like* e não-basal quanto aos seus aspectos clínico-patológico e evolução clínica das pacientes com seguimento de três anos.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Avaliar o *follow-up* das pacientes num período de três anos;(Metástase e Recidiva)
2. Avaliar o indicador de prognóstico através do exame histopatológico de rotina: tipo e grau histológico, linfonodos axilares, tamanho tumoral, estadiamento patológico e imunohistoquímica.(CK 5/6,EGFR,KI-67 e HER-2)



REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Epidemiologia

O câncer de mama é uma doença complexa e com diversos padrões de comportamento, evolução e resposta terapêutica, representando um problema de saúde pública em escala global. A incidência apresenta uma grande variabilidade geográfica. Nos últimos anos, aumentou 20%, representando um em cada quatro cânceres na população feminina, sendo o tipo de câncer mais comum entre as mulheres em 140 de 184 países analisados⁽¹⁶⁾. As taxas de incidência mais altas foram observadas na América do Norte e na Europa Ocidental, geralmente em países economicamente ricos e desenvolvidos, enquanto são 10 vezes mais baixas a taxas na África, na Ásia e nos países do terceiro mundo. Existe grande disparidade entre os países desenvolvidos e em desenvolvimento⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. O câncer de mama é a mais comum entre as mulheres americanas, exceto o câncer de pele. Aproximadamente 1 em 8 (12%) das mulheres nos Estados Unidos irão desenvolver câncer de mama invasivo durante sua vida⁽⁴⁾.

O câncer de mama é uma das causas de maior mortalidade e morbidade no mundo. Ele figura como o segundo mais comum tipo de câncer no mundo e a mais frequente neoplasia a acometer a população feminina, compreendendo 16% de todos os cânceres documentados em mulheres e causando aproximadamente 519.000 mulheres óbitos em 2004⁽⁵⁾. Levantamento do Projeto Globocan reportou 115.000 novos casos de câncer de mama na América Latina em 2008 e de 14,1 milhões de novos casos de câncer, e um total de 8,2 milhões de mortes por este diagnóstico^(3,5). De acordo com a estimativa do Globocan, foram esperados para o ano de 2015, 1,79 milhões de casos de câncer de mama em todo mundo^(3,5,19).

É importante destacar que quase 70% dos casos fatais de câncer de mama são observados em países em desenvolvimento⁽⁵⁾. Segundo Lee⁽²⁰⁾, a sobrevivência de pacientes cinco anos após o diagnóstico decresce de 80% em países desenvolvidos para 60% em países em desenvolvimento e 40% nos subdesenvolvidos.



Esse prognóstico desfavorável em países em desenvolvimento, grupo do qual o Brasil faz parte, está relacionado à falta de acesso a meios de diagnóstico precoce e sensível e a estratégias terapêuticas com mecanismos mais personalizados e menos efeitos colaterais⁽²¹⁾.

O número de casos de mama esperados no Brasil em 2016, é de 57.960, com risco estimado de 57,2 casos para cada 100 mil mulheres, aponta para uma ocorrência de aproximadamente 579 mil casos de câncer, mostrando a importância deste problema no país. No Nordeste, o INCA estimou em 2015, 10.490 casos, com risco de 36,74 casos por 100 mil mulheres. Em Pernambuco, o número de casos nesse mesmo ano é estimado de 2.450, com um risco estimado de 51,64 casos por 100 mil mulheres, que corresponde ao estado com a sétima maior incidência no nosso país⁽²²⁾ (Figura 2).



	Localização Primária	Casos	%
Mulheres	Mama feminina	57.960	28,1%
	Cólon e Reto	17.620	8,6%
	Colo do útero	16.340	7,9%
	Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.890	5,3%
	Estômago	7.600	3,7%
	Corpo do útero	6.950	3,4%
	Ovário	6.150	3,0%
	Glândula Tireoide	5.870	2,9%
	Linfoma não Hodgkin	5.030	2,4%
	Sistema Nervoso Central	4.830	2,3%

Figura 2. Incidência de câncer de mama no Brasil⁽²²⁾



Na atualidade, não existem mais dúvidas de que o câncer de mama está aumentando a incidência em grande parte dos países desenvolvidos. Parte desse aumento tem sido atribuída ao diagnóstico mais precoce em função da realização de exames de rotina e da mamografia. Isso pode ser atribuída ao aumento da sobrevida das mulheres e à diminuição da mortalidade por outras causas. Nos Estados Unidos, tem-se levantado a hipótese de que a triagem por meio da mamografia possa ter sido a causa do aumento observado na incidência do câncer de mama⁽⁴⁾.

No Brasil, as taxas de mortalidade são elevadas devido, à detecção da doença em estágio avançado⁽²³⁾, o que demonstra a falta de um programa de rastreamento que inclua a realização de exame clínico das mamas, mamografia anual e a identificação de grupos populacionais com risco elevado para o desenvolvimento da doença⁽²⁴⁾.

As taxas de mortalidade por câncer de mama continuam elevadas no Brasil, muito provavelmente porque a doença ainda é diagnosticada em estágios avançados. A sobrevida em um, cinco, 10 e 20 anos, em países desenvolvidos, como Inglaterra, é de 96%; 85%; 77% e 64% respectivamente. O estudo do INCA, apresentou, para câncer de mama, uma sobrevida de 80%⁽²²⁾.

Nos Estados Unidos é a segunda causa de morte nas mulheres, perdendo apenas para o câncer de pulmão. A chance que um câncer de mama irá ser responsável pela morte nas mulheres é um em 36 (cerca de 3%). A taxa de mortalidade vem diminuindo desde 1989, em mulheres jovens abaixo de 50 anos. Acredita-se que esta queda seja resultado do diagnóstico precoce da doença. Estima-se que a sobrevida média geral cumulativa, após cinco, 10 e 15 anos, seja de 89%, 83% e 78% nos países desenvolvidos e de 56% nos países em desenvolvimento⁽²²⁾.

No nosso país, as taxas de mortalidade são elevadas⁽²³⁾, o que demonstra a falta de um programa de rastreamento que inclua a realização de exame clínico das mamas, mamografia anual e a identificação de grupos populacionais com risco elevado para o desenvolvimento da doença⁽²⁴⁾. Estima-se que a sobrevida média na população mundial após cinco anos de doença é de 61%, sendo que essa sobrevida aumenta em 73% nos países desenvolvidos e de 56% nos países em desenvolvimento⁽⁶⁾.

Apesar de países desenvolvidos, como os Estados Unidos, terem maior proporção de casos diagnosticado em fase inicial, no ano de 2015, cerca de 60.290 mulheres terão câncer de mama *in situ*, porém é estimado 231.840 casos de câncer invasivo. Cerca de 40.290 mulheres

morrerão de câncer de mama, o que comprova a grande problemática envolvida nessa doença o que torna um problema de saúde pública mundial⁽⁴⁾.

2.2 História natural do câncer de mama

A mama normal apresenta um conjunto complexo de interações entre as células luminais, mioepiteliais, membrana basal e células estromais. Este complexo é dinâmico e exibem modificações fisiológicas próprias da mama, como por exemplo, a formação normal de novos pontos de ramificação ductal e lobular durante a puberdade, gravidez e algumas fases do ciclo menstrual. A anulação da membrana basal, proliferação aumentada, a perda da inibição do crescimento, angiogênese e invasão do estroma, podem ocorrer durante a carcinogênese, por células epiteliais anormais, células estromais ou ambas^(25,26) (Figura 3).

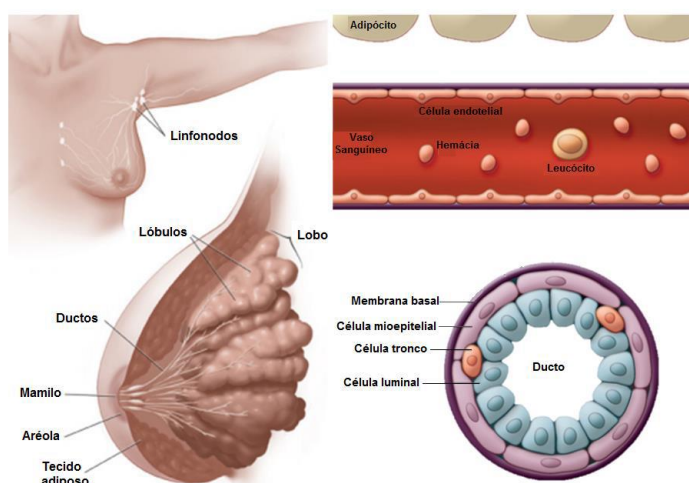


Figura 3. Arquitetura da mama normal. (A) Nível macroscópico
(B) Nível microscópico⁽²⁶⁾

As alterações biológicas que ocorrem em células malignas bem sucedidas, estão didaticamente divididas em: alterações ductais iniciais não ploriferativas que evolui para uma lesão proliferativa, seguindo-se um processo de hiperplasia atípica, posteriormente para carcinoma *in situ* e carcinoma invasor. Estas alterações não necessitam ocorrer nesta ordem especificamente, porém elas se acumulam até que as células adquiram potencial maligno. A associação das alterações a lesões mamárias pré-malignas sugere que os eventos iniciais estejam relacionados à evasão de sinais inibidores do crescimento e do apoptose e autossuficiência dos sinais de crescimento⁽²⁷⁾ (Figura 4).

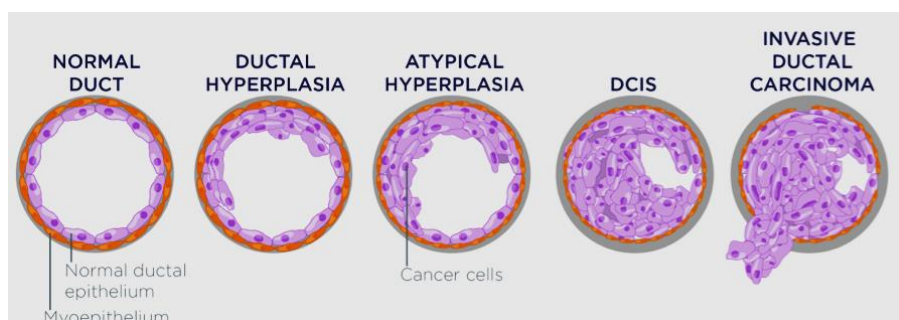


Figura 4. Eventos patológicos envolvidos no processo de neoplasia mamária ductal⁽²⁸⁾.

A evolução tumoral e a possibilidade de metastatização representam a história natural do câncer de mama. Classicamente, as lesões hiperplásicas evoluem para carcinoma ductal *in situ* e estes para infiltrativos^(25,29). Parte dos carcinomas infiltrativos de mama evolui, após longo período, de lesões benignas pré-existentes, passando por lesões precursoras pré-malignas, carcinoma *in situ* e carcinoma microinvasivo⁽³⁰⁾. Outros não seguem essa sequência, sendo desde o início carcinoma *in situ* ou invasores, com potencial ou não para metastatização⁽³¹⁾ (Figura 5).

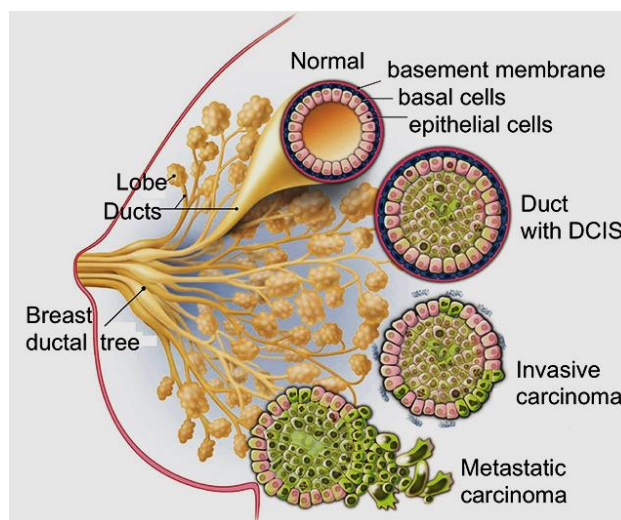


Figura 5. Classicamente, as lesões hiperplásicas evoluem para carcinoma ductal *in situ* e estes para infiltrativos⁽²⁵⁾

O principal fator determinante do ritmo de crescimento tumoral é a percentagem de suas células que estão em divisão durante o ciclo celular (G1, S, G2 e mitose), as células latentes, fora do ciclo celular, estão em estágio Go. As duas células filhas diploides, de um ciclo mitótico, entram em estágio G1, que é o intervalo entre o final da divisão celular e o início da



próxima fase da síntese do DNA(S). O estágio G1 dura em média 60 hs e corresponde ao período de produção de proteínas necessárias para duplicação do dano estágio S, que demora em média 20 hs, as células sintetizam DNA para o início da replicação cromossômica. No estágio G2 são produzidas proteínas relacionadas especificamente com o processo da divisão celular, as ciclinas A e B e diversas CDK, sendo a duração média do estágio G2 de 4 horas. A mitose é o segmento mais rápido do ciclo e distribui às duas células filhas conjuntos idênticos dos cromossomos. As células podem permanecer em G0 por curtos ou longos períodos, até de anos. Nesse estágio, se forem estimuladas por fatores de crescimento induzidos pelos hormônios esteroides sexuais, podem retornar novamente o percurso da via celular, entrando no G1. O tempo de duplicação do câncer de mama é resultado da interação entre a duração do ciclo celular, fração de proliferação e fração de perda celular após mitótico. Por meio de análise de casos de câncer submetidos a mamografias com grande intervalo entre o diagnóstico e o tratamento final^(32,33). Fournier et al.⁽³⁴⁾, estimaram que o tempo médio de duplicação tumoral é de 212 dias. Também, entram neste jogo potencialidades genéticas, a necrose e apoptose celular, e a reação imunológica sistêmica e local, esses fenômenos mediados por ação hormonal especialmente o estrógeno.

A capacidade de invasão dos tecidos adjacentes é essencial na agressividade desses tumores. Invadir é consequência da mobilidade das células malignas no espaço intersticial, alcançando vasos sanguíneos e linfáticos, o que viabiliza o descolamento das células neoplásicas para outros sítios. O crescimento tumoral é influenciado por alguns fatores, dentre eles as características morfogênicas da neoplasia que envolve o tipo histológico, o grau de diferenciação tumoral e a neovascularização sanguínea⁽³⁵⁾. A principal via de disseminação da célula neoplásica é a linfática pois além da mama ser muito rica em capilares linfáticos, ocorre ainda neolinfangiogênese peritumoral⁽³⁶⁾. Os êmbolos neoplásicos podem ultrapassar o tecido estromal e atingir os capilares linfáticos. Os linfáticos, em função da linfangiogênese, podem atingir a periferia do tumor, ou até mesmo infiltrá-lo intratumoralmente, apresentando luzes capilares permeáveis, como foi demonstrado em tumores experimentais⁽³⁷⁾. As células malignas da mama, começam a migrar para circulação sanguínea em estágios precoces⁽³⁸⁾, entretanto a sua habilidade para estabelecer metástase e futura recidiva ainda não está bem esclarecida⁽³⁹⁾. A disseminação metastática a distância compreende várias etapas: embolização intravascular, extravasamento capilar, retenção em determinado órgão, infiltração e reprodução em sítio secundário^(40,41).



Dentro do compartimento circulatório, a eficiência do transporte intravascular vai depender da capacidade das células neoplásicas de formarem êmbolos associados com células de sangue, principalmente plaquetas. As selectinas são glicoproteínas de adesão que facilitam a interação das células cancerosas com elementos figurados do sangue, e tornam os êmbolos mais estáveis e menos reconhecíveis por células de defesa do organismo⁽⁴²⁾.

O ritmo de formação das metástases no câncer de mama é tipicamente heterogênea. Por um lado, algumas pacientes (10-15%) desenvolvem metástase sistêmica nos primeiros três anos após a detecção do tumor. Por outro lado, as metástases podem surgir até depois de 20 anos, ou seja, a recorrência pode surgir em qualquer etapa da vida. Uma vez disseminadas, podem formar metástase à distância em vários órgãos sendo o sistema esquelético o local de maior frequência de acometimento com aproximadamente 65% dos casos, seguidos pulmão, pleura, fígado, ovário, suprarrenal e sistema nervoso central incluindo leptomeninges e olhos⁽⁴³⁾.

Em todas as etapas da carcinogênese e da história natural do câncer de mama, forças antagônicas ao processo evolutivo entram em atuação. A imensa maioria das células mutantes não se reproduz e são bloqueadas por um sistema de vigilância genômica. O mesmo ocorre com as células que logram atingir os canais circulatórios e que, mediante alguns mecanismos de defesa, não consegue se traduzir em foco metastático ativo⁽⁴⁴⁾.

2.3 Fatores prognóstico

Os fatores de prognóstico permeiam um amplo universo de condição de risco, incluindo desde variáveis como idade do paciente no momento do diagnóstico até um complexo de alterações genéticas identificadas⁽⁴⁵⁾ (Quadro 1).

**Quadro 1.** Classificação dos fatores de prognóstico do câncer de mama⁽⁴⁵⁾

Classificação	Características	Fatores
Primeira geração	Fatores anatômicos	1.Tamanho do tumor 2.Comprometimento linfonodal 3.Subtipos histológicos 4.Idade
Segunda geração	Características patológicas	1.Grau histológico 2.Necrose tumoral 3.Ploidia 4.Índice mitótico
	Responsividade endócrina	1.Receptores de estrogênio e progesterona
Terceira geração	Fatores moleculares	1.Amplificadores de oncogenes: neu/C-erb-2 e c-myc 2.Supressores de genes: p53 e nm23
	Proteases Outros fatores	1. Catepsina D 2. Fator de crescimento do hepatócito 3. Glicoproteína LA.135
Quarta geração	Preditores de metástase específicos para os diferentes órgãos	1. Micrometástase na coluna 2. Polimorfismo de L-myc 3. Vimentin

Um fator de prognóstico é definido como um parâmetro possível de ser mensurado no momento do diagnóstico e que serviria como preditor da sobrevida ou do tempo livre de doença⁽⁴⁶⁾.

2.3.1 Tamanho do tumor

Depois do status linfonodal, o tamanho tumoral é um consistente e forte fator prognóstico para recorrência à distância. O diâmetro do tumor primário é um fator importante a ser considerado na indicação cirúrgica. Estudo tem demonstrado a relação entre tamanho tumoral e sobrevida⁽⁴⁷⁾. A SEER analisou 302.763 pacientes no período de 1988 até 2001, acerca da taxa de sobrevida de todos os estágios e idade com o tamanho do tumor primário. Entre aquelas com tumores de 0,1 e 0,9 cm, a sobrevida foi 100%; de 1,0 para 1,9 cm (91,8%); para lesões 2,0 para 2,9 cm (75,7 %); de 3,0 para 3,9 cm (61,3%); de 4,0 e 4,9 cm (54,2%); de 5.0 para 9,9 cm (45,7%); e para tumores primários difusos (27%)⁽⁴⁸⁾.

A recorrência da doença aumenta com o tamanho tumoral. Um trabalho clássico com portadores de câncer demonstrou que o risco cumulativo de metástase foi de 25% para tumores até 2 cm, 35% com 2 e 3 cm, 45% com 3 e 4 cm e mais de 50% para tumores com 4 e 5 cm⁽⁴⁹⁾. Os tumores acima de 5cm de crescimento rápido e sem envolvimento linfonodal, pode ter menor probabilidade de metástase. Estudo do *Memorial Sloan-Kettering Cancer Center*, indica que em 644 pacientes com tumor menor que 1cm têm taxa de recorrência em 20 anos de 12%



e sobrevida de 88%⁽⁵⁰⁾. O NSAPB indica que a chance de metástase a distância com tumores abaixo de 1,0 cm era aproximadamente de 10%. Em certos tamanhos tumorais menores de 1,0 cm, outros fatores podem precisar ser mensurados para refinar o prognóstico desses pacientes. As chances de recorrência aumentam tanto quanto maior for o diâmetro do tumor, que depois dos linfonodos é o principal fator prognóstico⁽⁵¹⁾. Análise dos dados do SEER no período entre 1988 e 2001 com 302.763 pacientes nos Estados Unidos apresenta taxas de sobrevida em cinco anos do câncer de mama de acordo com o tamanho tumoral. Esse tamanho é considerado fator independente no câncer de mama^(52,53), e tem grande relevância em pacientes com axila negativa no câncer de mama^(50,54). Embora o tamanho do tumor, seja um fator de prognóstico sistêmico, ele não interfere por si só no risco de recidiva local após cirurgia conservadora.

Os tumores com menor tamanho apresentam invariavelmente melhor prognóstico, tanto para sobrevida global, quanto para sobrevida livre de doença, independente do autor, período ou tipo de tratamento aplicado.

2.3.2 Envolvimento linfonodal

O status linfonodal é o mais importante fator prognóstico clínico-patológico que é variável com o estágio locoregional do câncer de mama^(47,55).

A via linfática é a principal via de disseminação das células neoplásicas da mama, porque a mama, que já é rica em capilares linfáticos, desenvolve ainda neolinfangiogênese peritumoral^(49,56). A presença ou ausência de metástase dos linfonodos axilares é o mais forte fator prognóstico no câncer de mama. Geralmente existe uma relação direta entre o número de linfonodos com metástase e é associada com o aumento de risco de recorrência local e progressão da doença⁽⁵⁷⁾.

Pesquisadores demonstraram que a sobrevida da doença, depende da positividade dos linfonodos. Em cinco anos a sobrevida livre da doença em axila negativa era de 80%⁽⁵⁸⁾. A maioria dos estudos estratifica os linfonodos, em quatro grupos, de acordo com a *National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project* em linfonodos negativos, um a três linfonodos comprometidos, quatro a nove e 10 ou mais⁽⁵⁵⁾. O estado dos linfonodos axilares é muito importante na sobrevida das pacientes. Wilking et al.⁽⁵⁹⁾, mostraram que o prognóstico das pacientes com mais de 4 linfonodos positivos é reservado, neste estudo em 1.622 pacientes, mostrou que o valor prognóstico da axila é maior para casos com mais de 10 linfonodos



examinados. Quando maior for o número de linfonodos comprometidos, maior será a chance de metastização^(58,60,61).

A disseminação metastática nos linfonodos axilares segue, em geral, um padrão regular segundo os níveis anatômicos I, II e III. Veronesi et al.⁽⁶²⁾, encontraram 839 casos de axila comprometida entre 1.446 casos e, desses, 54,2% apresentavam comprometidos o nível I, 22,3%, dos níveis I e II; e 22,2%, dos níveis I, II e III ou I e III. Somente 1,3% mostraram comprometimento de nível II ou III sem envolvimento do nível I⁽⁶³⁾.

Em uma análise de 2.233 pacientes com câncer de mama, a positividade estava presente em 11% das pacientes com tumores de 0,1 para 0,9 cm, 30% com tumores de 1,0 para 1,9 cm, 40% com tumores de 2,0 para 2,9 cm, 50% com tumores de 3,0 para 3,9 cm e 52% com tumores de 4,0 para 4,9 cm⁽⁶⁴⁾. A relação entre a presença de metástase linfonodal e o tamanho do tumor primário entre os diferentes tipos de subtipos moleculares, luminal B e HER 2+ apresentam mais positividade linfonodal de 52% e 57% respectivamente, do que o luminal A ou Basal (43 e 44%). A incidência de 4 ou mais linfonodos positivos também variam de 11% de Luminal A e 14% para o subtipo basal para 20% para luminal B e 28% para tumores HER2+⁽⁶⁵⁾.

Autores sugerem que a sobrevida em cinco anos para pacientes com linfonodos negativos é de 82,8%, comparado com 73% para aqueles com um a três linfonodos comprometidos, 45,7% para os com quatro a 12 linfonodos doentes e 28,4% para aqueles com 13 ou mais linfonodos atingidos por metástase⁽⁵⁵⁾. As pacientes que não possuem comprometimento metastático para linfonodos apresentam índices melhores de sobrevida global (acima de 77% em 10 anos) e de sobrevida livre. Constata-se que a sobrevida dessas pacientes e o número de linfonodos acometidos são variáveis inversamente proporcionais⁽⁶⁶⁾. A avaliação do comprometimento axilar tem sido realizada por dissecação axilar ou uso do linfonodo sentinela (LS), esse por sua vez é o primeiro linfonodo a receber metástase na cadeia linfonodal da drenagem dos tumores⁽⁶²⁾. No estudo do linfonodo sentinela, os cortes seriados trouxe a questão do valor das micrometástase e seu prognóstico. As microcalcificações medindo de 0,2 mm a 2,0 mm. Além das micro, são avaliadas as células tumorais isoladas (agrupamento de até 0,2 mm) e do achado do antígeno de células neoplásicas por imunohistoquímica. O significado das micrometástase é controverso, embora a maior tendência seja avaliar como um fator de prognóstico negativo, levando um maior aumento nas chances de mortalidade pela doença comparativamente a axila negativa⁽⁶⁷⁾.



Em estudo com 297.533 mulheres, as micrometástases foram associadas a pior sobrevida global (RR para mortalidade=1,44; IC 95%=1,29-1,62) e pior sobrevida livre em cinco anos (RR=1,55; IC 95%=1,32-1,82) nos casos de metástases ocultas⁽⁶⁸⁾.

De acordo com o NSABP B32, a metástase oculta é um fator prognóstico independente para recidiva, apesar de quase não apresentar impacto sobre a recidiva global. As células tumorais isoladas foram associadas a aumento da mortalidade, porém com redução da sobrevida global de apenas 0,6 % em 5 anos⁽⁶⁹⁾.

O trial do ACOSOG Z0010 demonstrou que uma sobrevida de 95,7% em pacientes sem metástases oculta e 95,1% com metástase oculta, sem significado estatístico⁽⁷⁰⁾.

A extensão extracapsular da metástase linfonodal é fator prognóstico adverso no câncer de mama. Está associado à maior número de linfonodos axilares positivos, invasão linfovascular no parênquima mamário, aumento do risco de recidiva locorregional e metástase à distância. Outras características do câncer de mama associados à metástase linfonodal são: tumores de grau intermediário ou alto grau, histologia ductal, carcinoma inflamatório, raça negra, idade jovem e sexo masculino⁽⁷¹⁾.

2.3.3 Tipo histológico

A mama é sede de uma variedade de neoplasias de subtipos histológicos, embora a grande maioria dos cânceres corresponda ao carcinoma ductal. Porém, podem ser encontrados lobular, uma mistura de ductal e lobular, e outros não específicos. Pesquisadores sugerem que as pacientes com tumores ductais infiltrativos apresentam maior incidência de linfonodos axilares positivos e prognóstico clínico pior, que as pacientes com outros tipos de tumores infiltrativos menos comuns^(72,73). Os carcinomas infiltrativos mais comuns são o ductal em torno de 80 e 90% e o lobular em torno de 10 a 15% dos cânceres e parece ter uma biologia distinta⁽⁷⁴⁾. O carcinoma lobular está associado com idade mais avançada, tamanhos maiores, ser associado com baixa fração da fase S, positividade para receptores hormonais e Her-2, p53 e fatores de crescimento negativo⁽⁷⁵⁾. Além disso, o carcinoma lobular apresenta maior taxa de bilateralidade e recidiva local⁽⁷⁶⁾. Os carcinomas ductais têm um crescimento local expansivo e tendência à disseminação via ductos locais, porém o carcinoma lobular, cresce de maneira insidiosa, sem um padrão radial, e com tendência a multicentricidade. A sobrevida em cinco



anos dessas variantes histológicas é de 87,5% para o ductal, 91,6% para o lobular e 92,9% para associação do ductal com o lobular⁽⁴⁸⁾.

Os tumores especiais, com tipo histológico papilar puro, cribiforme, tubular e mucinoso, têm melhor prognóstico comparado com o carcinoma ductal com sobrevida livre da doença em 5 anos próxima dos 100%^(48,77). Normalmente têm crescimento lento, raramente ultrapassam 4cm e são diferenciados e ricos em receptores hormonais. Para os carcinomas inflamatório esta sobrevida é de 34,2%. Os carcinomas metaplásico e o micropapilar são de pior prognóstico.

Alguns tipos histológicos de câncer de mama estão associados a prognóstico mais favoráveis, tais como: os tipos adenoide cístico, medular, papilífero, mucinoso e carcinomas tubulares apresentam prognósticos relativamente melhor do que os tipos carcinoma ductal e lobular invasivo⁽⁶¹⁾.

2.3.4 Idade

Em estudo com análise multivariada, as mulheres com idade inferior a 35 anos com câncer de mama, têm pior prognóstico e apresentam aumento de risco de recorrência local em comparação com pacientes na pós-menopausa ou com mais de 50 anos^(72,78), sugerindo ser um fator de risco independente⁽⁷⁹⁾. Pacientes jovens têm maior densidade do tecido mamário, o que dificulta em muito os exames radiológicos e macroscópico da mama circunjacente ao tumor, no sentido de garantir margens livres e suficientes. Essas pacientes, apresentam maior chance de disseminação intracanalicular a distância e recidiva local são mais elevadas neste grupo de pacientes comprometendo o sucesso do tratamento conservador⁽⁸⁰⁾. Como também, as jovens sofrem variações hormonais próprias do menacme, estimulando o tecido mamário que permanece após a cirurgia, tecido este já alterado pelas modificações genéticas inerentes do câncer na mulher jovem. Em dois estudos^(72,81), as pacientes jovens estão associados com maior prevalência de fatores de adversidade histológica (pobre diferenciação, invasão linfática, componente intraductal extenso). Em adição, o aumento do tumor, linfonodo positivo, receptores hormonais negativos, aumento da fração fase S e anormalidade do p53 são mais comuns em mulheres de 30 para 35 anos. A maior parte dos estudos aponta que nas pacientes jovens, especialmente abaixo de 35 anos, com tumores maiores e comprometimento axilar,



apresentam prognóstico ruim, com recorrência precoce, com maior capacidade de metástase à distância e morte⁽⁸²⁾.

A SEER analisou 243,012 pacientes com câncer de mama abaixo de 40 anos de idade. Esses tumores apresentam um alto grau, grande volume, e mais frequentemente receptores estrogênicos negativos e receptores de progesterona negativos associado com linfonodo axilar positivo. A taxa de mortalidade foi bem maior nas pacientes mais jovens em comparação com as mais velhas⁽⁸³⁾.

Em 11 anos em média de seguimento, em recente análise do EORTC, reportou que entre pacientes com menos de 40 anos de idade, tamanho tumoral, comprometimento axilar, e os subtipos moleculares foram fatores de prognósticos independente na sobrevida dos pacientes. Entre pacientes com linfonodos axilares negativos com menos de 40 anos somente os subtipos moleculares foi significativa. Pacientes jovens com tumores que tenham o subtipo Luminal B, triplo-negativo ou HER-2+ apresentam particularmente desvantagens com respeito a recorrência e mortalidade⁽⁸⁴⁾. Pacientes com tumores com receptores hormonais negativos são mais frequentes nesta faixa etária.

A idade está intimamente relacionada ao tratamento indicado, levando-se em consideração, além das características da doença, as demais condições clínicas da paciente. A quimioterapia é especialmente eficaz em pacientes jovens com câncer de mama. Consensos internacionais a consideram indicação absoluta em pacientes com menos de 35 anos, independentemente de qualquer outra característica do tumor⁽⁸⁵⁾.

2.3.5 Grau histológico

A graduação histológica representa uma medida da diferenciação celular. O grau do tumor está associado ao intervalo livre e à sobrevida livre de doença e à sobrevida específica pelo câncer de mama⁽⁸⁶⁾. Todos os carcinomas invasivos da mama, com exceção do carcinoma medular, devem ser graduados. São vários os sistemas de graduação histológica aplicados ao câncer de mama, desenvolvidos desde 1925, quando Greenhalgh, pela primeira vez, aplicou a graduação histológica em tumores de mama. Estas graduações aplicadas no câncer de mama primário têm demonstrado correlação com risco de metástase a distância. O sistema mais utilizado na avaliação do grau é Staff, Bloom Richardson (SBR)⁽⁸⁷⁾, porém este sistema sofreu modificação. O SBR, considera o grau de diferenciação tubular, o polimorfismo nuclear e o



índice mitótico. Elton e Ellis⁽⁸⁷⁾ modificaram o sistema SBR, que também refere ao sistema de Classificação de *Nottingham* (NCHG), que divide os tumores em três variáveis anatomopatológicas: percentagem de túbulos, grau nuclear (polimorfismo) e índice mitótico em área microscópica definitiva são dados um escore numa escala de 1 a 3. O método de avaliação do grau histológico é recomendado pelo Colégio Americano de Patologistas^(87,88). O tipo histológico da neoplasia mamária está relacionado diretamente com a sobrevida, conforme demonstrado em estudos em séries grandes de pacientes e longo tempo de acompanhamento pós-cirúrgico cerca de 25 anos⁽⁸⁹⁾. Os tumores de alto grau são associados com altas taxas de metástases⁽⁹⁰⁾. O grau histológico é um fator de prognóstico independente, de validade extensamente comprovada. Na graduação histológica de *Nottingham Combine Histológico Grade* (NCHC) proposta por Elton e Ellis⁽⁸⁷⁾ é tradicionalmente expressa em três categorias de diferenciação: I) bem diferenciado (somatório final de 3 a 5) baixo grau; II) moderadamente diferenciado (somatório final de 6 a 7) grau intermediário; III) pouco diferenciado (somatório final de 8 a 9) alto grau. Essa classificação baseia-se na soma da pontuação para determinados critérios (formação tubular, polimorfismo nuclear e contagem mitótica em 10 campos de grande aumento)⁽⁹¹⁾. A sobrevida em 20 anos, entre pacientes com neoplasias graus I, II e III (SBR), é estimada em, respectivamente, 41, 29 e 21%⁽⁹²⁾.

Segundo Mahammed et al.⁽⁹³⁾, existe outros fatores histológicos, como a presença de extinção do DCIS, invasão linfática, necrose tumoral e células inflamatórias os quais têm demonstrado serem associados a pior prognóstico. A presença de invasão linfovascular é significativamente associado com a presença de linfonodos axilares, tumores grandes, desenvolvimento de metástase à distância, recorrência regional, pior intervalo livre da doença e sobrevida global.

A SEER analisou os diferentes graus com relação a sobrevida em cinco anos, no grau I teve 100% e nos graus II e III, 93,2% e 77,6% respectivamente. Para o estágio II, III e IV, o grau histológico teve um prognóstico significativo⁽⁴⁸⁾.

A graduação histológica é subjetiva, pouco reprodutível e depende muito do observador. É necessário manuseio, fixação e preparo adequado do material para garantir a qualidade da análise.



2.3.6 Aspectos Moleculares

De acordo com o "Working Group and Biomarkers Consortium", do *National Institutes of Health* (NIH), um biomarcador é uma característica que pode ser medida de forma objetiva para indicar processos biológicos normais ou patogênicos, ou uma resposta farmacológica para determinada intervenção terapêutica⁽⁹⁴⁾. Embora a maioria destes marcadores sejam proteínas, mais recentemente, padrões de expressão gênica e alterações no DNA identificados em tumores também têm tido destaque como marcadores tumorais⁽⁹⁵⁾.

O câncer é uma doença decorrente de alterações genéticas e epigenéticas. Embora fatores não genéticos desempenhem um papel em vários estágios da tumorigênese, o desenvolvimento e propagação do câncer de mama e de outros cânceres humanos são, em última análise, causados pela superexpressão, silenciamento, mutação e/ou deleção de genes específicos ou grupos de genes que dirigem estes eventos. Entre todos os tipos possíveis de marcadores tumorais, os biomarcadores genéticos e moleculares têm recebido especial atenção na pesquisa do câncer, uma vez que eles podem levar à descoberta dos determinantes gênicos no processo cancerígeno, desvendando as diferenças genéticas e moleculares entre as células cancerosas e saudáveis, bem como entre os diferentes subtipos de determinado câncer⁽⁹⁵⁾.

Genes expressos de maneira aberrante, identificados pelos perfis de expressão gênica podem ser divididos em duas categorias: os genes que são simplesmente correlacionados com determinado tipo de câncer, mas não funcionalmente relacionados a ele, e os genes que, na verdade, causam o desenvolvimento do câncer, os determinantes gênicos. Há um grande interesse em encontrar determinantes gênicos do câncer, não só para proporcionar uma melhor descrição da doença em termos moleculares⁽⁹⁶⁾ mas também para o desenvolvimento de terapias alvo⁽⁹⁷⁾.

A classificação dos carcinomas de mama em tipos moleculares tem com base em alterações de alguns genes, através do perfil imunohistoquímico conseguimos obter uma aproximação indireta destes subgrupos. Os tipos moleculares do carcinoma mamário são o Luminal A, cujo carcinoma expressa receptores hormonais positivos e HER-2 negativo, e com baixo índice de proliferação celular aferido ao marcador KI-67 (menor que 14%). O Luminal B, carcinoma igualmente originário do epitélio ductal, também expressam receptores hormonais, contudo o índice de proliferação celular (KI-67) é maior ou igual a 14%. O HER-2 são negativos ou positivo. O HER-2 é o carcinoma mamário que se caracteriza por apresentar amplificação do gene ERBB2. Costumeiramente, estas lesões são negativas para receptores

hormonais. Apresentam grande potencial de agressividade biológica, porém, têm resposta clínica quando tratados com anticorpo anti-Her-2. Supostamente, a origem também é nas células luminais dos ductos mamários. O basal-simile (basal-like), este tipo de tumor supostamente se origina das células basais dos ductos mamários em virtude da expressão das citoqueratinas 5 e 6, esta associado á um mau prognóstico, não respondem a tratamento de terapia endócrina ou transtuzumab⁽⁹⁸⁾ (Figura 6).

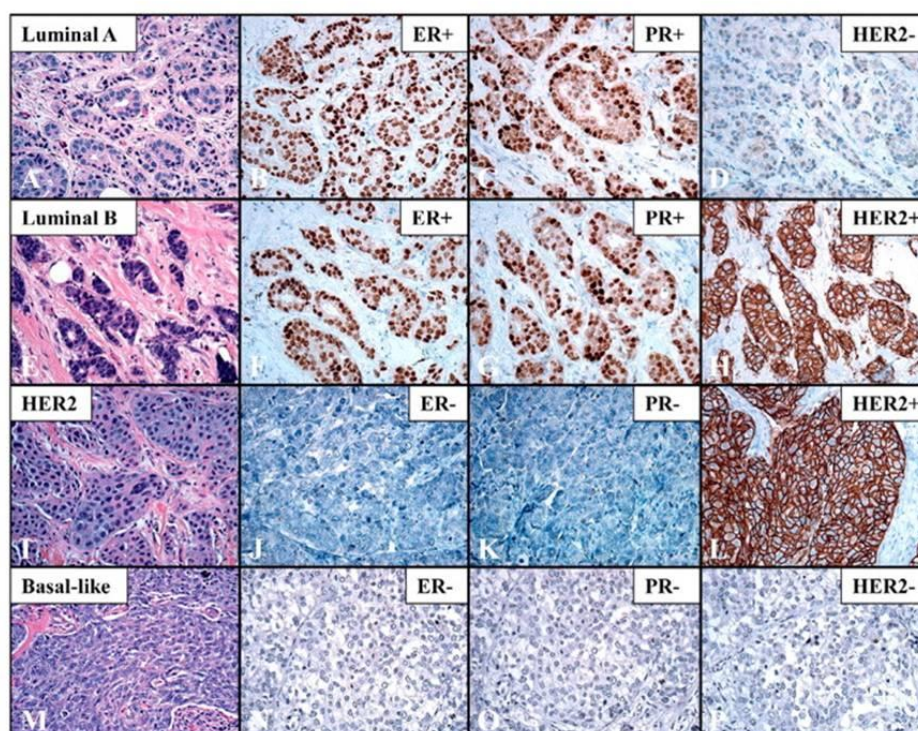


Figura 6. Tipos moleculares do carcinoma mamário⁽⁹⁹⁾



2.3.7 Receptores hormonais

Os receptores hormonais além de ter um valor prognóstico, têm também um valor preditivo, independentes dos fatores morfológicos e clínicos clássicos. A positividade para os receptores estrogênicos identifica tumores de melhor prognóstico e que podem responder à terapia endócrina, já a positividade para receptores de progesterona, geralmente relacionado com a positividade de receptores de estrógeno e têm menos significado clínico⁽¹⁰⁰⁾.

Os receptores hormonais indicam a presença ou não dos receptores nas células tumorais⁽¹⁰¹⁾. Os receptores de estrógeno (RE) e progesterona (RP) têm sido rotineiramente estudados no câncer de mama desde 1970⁽¹⁰²⁾. Os tumores que contém receptores positivos têm melhor prognóstico e vão obter benefícios com hormonioterapia^(103,104). Os receptores são considerados, tanto fatores prognóstico quando fatores preditivos a resposta terapêutica. Cerca de 80% dos carcinomas invasores da mama expressam receptores para estrógenos. Já os receptores para progesterona estão expressos em cerca de 60-70% dos casos e indicam que a via para receptor de estrógeno está intacta e funcionando⁽¹⁰⁵⁾.

É possível afirmar, que a positividade RE e RP seja apenas indicativo de tumores mais indolentes, com menor velocidade de crescimento e longo período para recorrência da doença. O RE atua como regulador do crescimento epitelial nas células mamárias, com papel importante na maturação do tecido, no desenvolvimento e na progressão do câncer de mama. Sua expressão se correlaciona com baixo grau histológico, sendo alvo de tratamento e importante marcador preditivo de resposta clínica a terapia hormonal. Os estrogênios são reconhecidos como agentes estimuladores da proliferação celular mamária. Os tumores que respondem a terapia hormonal expressam altos níveis de receptores de estrógeno^(46,106).

Avaliação dos RE/RP é feita pelo método de imunohistoquímica, que estabeleceu escore de proporção de células positivas de 0 a 5 e um escore de intensidade da positividade de 0 a 3. Quando a soma dos valores for maior que 2, o teste será positivo e quando a percentagem de células for superior a 1%⁽¹⁰⁷⁾. A imunohistoquímica é uma reação química no tecido através de imunidade, com base na determinação de antígenos celulares específicos ou proteínas e produtos proteicos através de interação antígeno-anticorpo. É uma reação específica em que anticorpos pré-determinados reagirão contra antígenos ou proteínas do tecido alvo, a serem pesquisados. A partir daí, são utilizados substâncias colorigênicas (cromógeno) que mudam a cor quando a reação acontece. Esta marcação é observada e avaliada nos locais da célula em

que sua localização é esperada, ou seja, núcleo, citoplasma, membrana. Dessa forma, conseguem-se determinar a positividade ou negatividade da reação⁽¹⁰¹⁾ (Figura 7).

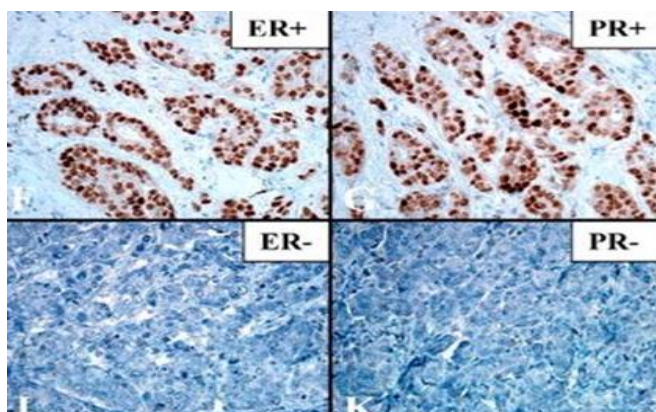


Figura 7. Determinar a positividade ou negatividade da reação⁽⁹⁹⁾

A técnica de imunohistoquímica utiliza anticorpos para detectar proteínas (antígenos), ou seja, componentes moleculares presentes nos tecidos. O exame do perfil imunohistoquímico dos carcinomas da mama tem sido utilizado rotineiramente, pois traz informações prognóstica e características das lesões que se relacionam à resposta a diferentes drogas. O painel básico de anticorpos no carcinoma de mama são o receptor hormonal de estrógeno, receptor hormonal de progesterona, fator de proliferação celular Ki-67 e oncogene c-erb2 (HER-2). Este exame tornou-se um método auxiliar de diagnóstico, e como também no planejamento terapêutico de extrema importância e utilidade pelo seu custo relativamente baixo e sobretudo por ser realizado em material embebido em parafina. A imunohistoquímica tornou-se um estudo de biologia molecular ao alcance de todos⁽¹⁰⁸⁾. Pouco se sabe sobre a ação isolada da progesterona sobre a mama. O valor prognóstico do receptor de progesterona isolado é controverso e tem pouca utilidade⁽¹⁰⁹⁾. A proliferação celular induzida pelos estrogênios é maior quanto este estímulo ocorre simultaneamente a progesterona. Esta progesterona apresenta um mecanismo semelhante ao estradiol e existem proteínas receptoras de progesterona, que são pesquisadas por imunohistoquímica⁽¹¹⁰⁾.

O aumento dos níveis de RE e RP estão também associados com uma melhor resposta ao tratamento hormonal por longo tempo e uma maior sobrevida⁽¹⁰⁷⁾. Outro fato importante é que os receptores hormonais encontrados nas metástases, nem sempre está correlacionado com o tumor primário com aproximadamente 20 a 30 % de taxa de conversão de RE+ para RE- e muito menos frequentemente de RE- para RE+ nas recidivas⁽¹¹¹⁾.



2.3.8 Oncogene *HER2*

É um proto-oncogene considerado fator preditivo e prognóstico do câncer de mama. A presença de grande quantidade da proteína Her-2 na membrana celular, a partir do gene do mesmo nome localizado no cromossomo 17q21 que codifica a síntese da proteína cerb-2 de 185-KDa (p185^{her-2}), que é um dos receptores transmembrana homólogo ao receptor do fator de crescimento epidermal (egfr)⁽¹¹²⁾. A ligação deste receptor acarretará a transmissão de um sinal para a ativação da tirosina quinase intracelular e esta enzima fosforila outras tirosina-kinases que irão transmitir os sinais para proliferação, migração, adesão e transformação celular⁽¹¹³⁾. Consequentemente, a ativação anômala do gene *erb-2* terá como consequência a exacerbação das funções sinalizadas pela proteína cerB-2.

A superexpressão está associada a uma maior agressividade tumoral, taxas de recorrência mais altas e maior mortalidade em pacientes com linfonodos positivos. A proteína Her-2, quando ligada aos fatores de crescimento tumoral, inicia uma cascata de reação que promovem divisão celular e, consequentemente, crescimento do tumor. O HER2 tem sido extensamente estudado em carcinoma de mama, desde que se foi demonstrada associação entre a amplificação do gene e mau prognóstico. Uma vez ativados na forma de oncogenes HER2, podem ser iniciadores ou promotores da carcinogênese. O HER2 estimula a proliferação tumoral, a angiogênese e a capacidade de metastatização. A amplificação do gene está descrita em 10 a 40% do câncer de mama. De acordo com alguns pesquisadores as pacientes cujos tumores exibem expressão aumentada de HER2, apresentam uma menor sobrevida^(114,115). O Her-2 é avaliado através de um escore que vai de 0 a 3. De 0-1 é considerado negativo, 2 é considerado indeterminado e o escore 3 é considerado positivo. Este último tem valor preditivo para uso do trastuzumabe. No escore 2, está indicado o estudo através do FISH, que serve para identificar a existência de amplificação do gene⁽¹¹⁶⁾.

A proteína HER-2 localiza-se na membrana celular e, apesar de não ser um ligante específico conhecido, é capaz de ativar uma cascata de sinalização que encaminha a célula para multiplicar-se; há drogas disponíveis que ligam-se a esta proteína (anticorpo monoclonal), bloqueando a sua ativação e promovendo a destruição celular, através de ativação imunológica do organismo. Em 2007, foi considerado parâmetro preditivo de resposta terapêutica pela Sociedade Americana de Oncologia Clínica⁽¹¹⁶⁾. Esta proteína é um marcador preditivo para uma resposta terapêutica mais específica do que os fármacos tradicionais (Figura 8).

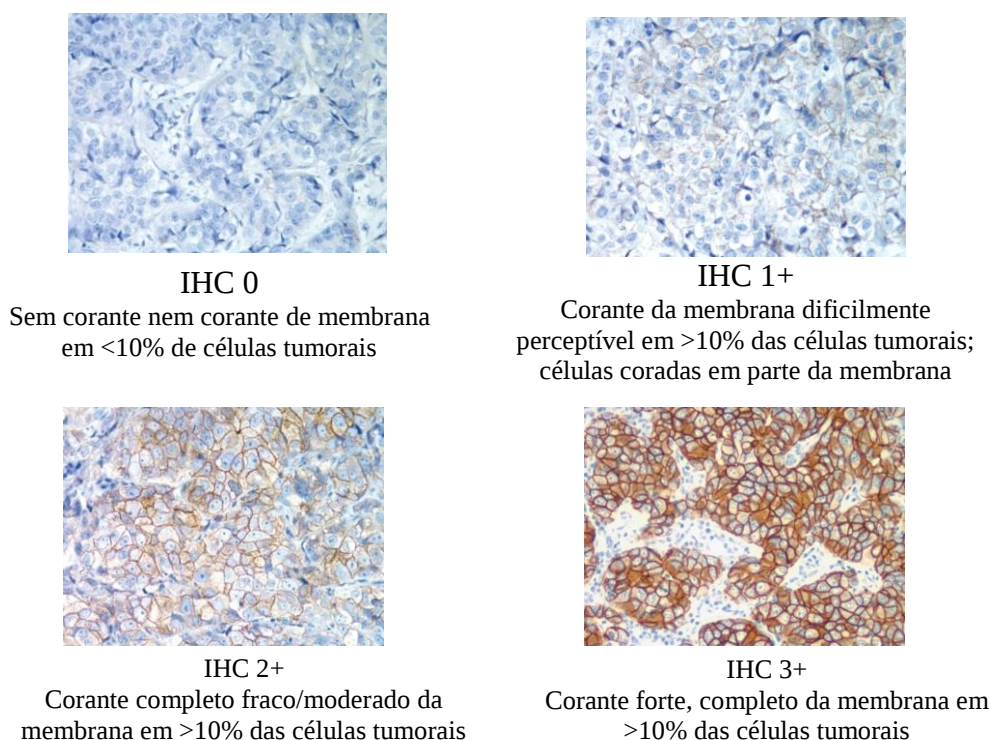


Figura 8. Interpretação do escore do HER-2⁽⁹⁹⁾

A avaliação da expressão da proteína do HER2 no câncer de mama, pode ser feita pelo método imunohistoquímico. Na rotina da pesquisa cirúrgica, é possível utilizar marcadores imunohistoquímicos adequados para pesquisar proteínas relacionadas com os perfis de expressão gênica⁽¹⁰⁵⁾. Entre os métodos mais utilizados para diagnosticar o HER-2, estão às avaliações que utilizam ácido nucléico, como por exemplo, *southern* ou *northern blot*, PCR, *Fluorescence in situ Hybridization* (FISH) e métodos que quantificam a expressão da proteína como *western blot* e imunohistoquímica⁽¹¹⁷⁾. Na avaliação histológica de biópsia ou de ressecção cirúrgica a imunohistoquímica é a técnica mais utilizada na rotina, por ser mais simples, rápida e relativamente barata⁽¹¹⁸⁾.

O HER-2 é uma glicoproteína transmembrana envolvida no controle do crescimento celular⁽¹¹⁹⁾. Atua como correceptor dos fatores de crescimento múltiplos. A superexpressão do HER-2, pode ser determinado pela avaliação do conteúdo proteico, utilizando imunohistoquímica, ou pela determinação de cópias gênica, utilizando FISH. A classificação de positividade do HER-2 é muito importante no contexto atual do tratamento do câncer de mama. O HER-2 é considerado um fator prognóstico por estar associado com maior agressividade tumoral, menor sobrevida global e menor sobrevida livre de doença, com



aumento do risco de recidiva precoce⁽¹²⁰⁾. Além disso, estudos clínicos mostraram que o HER-2 expresso ou amplificado está associado com vários fatores de mau prognóstico, como receptor hormonal negativo, tumor indiferenciado, fração S elevada, linfonodo comprometidos e mutação do p53⁽¹²¹⁾.

A superexpressão da proteína HER-2/neu em pacientes linfonodos negativos tem sido correlacionada com recorrência da doença e metástase⁽¹²²⁾. A avaliação do status da HER-2/neu só ou em combinação com outros fatores de prognósticos, talvez identifique o risco de recorrência em pacientes linfonodo-negativos, e então o tratamento pode ser individualizado⁽¹¹⁷⁾.

O valor da amplificação de HER-2 se mostrou independente quando comparado a outros fatores de prognósticos importantes, como estado dos linfonodos, tamanho tumoral e presença ou ausência de receptores hormonais. Esse valor foi superior aos outros fatores comparados e comumente utilizados (tamanho do tumor, estado dos receptores hormonais e idade no momento do diagnóstico), sendo considerado semelhante e independente em relação ao melhor fator prognosticador, que é o número de linfonodos axilares comprometidos⁽¹¹⁴⁾. A sua determinação é fundamental, tendo em vista seu valor prognóstico e também preditivo de resposta ao tratamento com o anticorpo monoclonal trastuzumabe associado com quimioterapia, seja nas formas adjuvante ou paliativa para doença metastática. O trastuzumabe na adjuvância, conforme demonstrado em cinco estudos clínicos randomizados (HERA, NSABP B31, NCCTG N9831, BCIRG 006 e FIN HER), envolvendo 13.353 pacientes, reduz o risco relativo de recidiva em aproximadamente 50% e o risco de morte em 30%. O trastuzumab (Herceptin) é um anticorpo monoclonal humanizado ao HER2/neu desenvolvido especificamente para células alvo tumorais, não afetando as células normais⁽⁹¹⁾.

2.3.9 Fatores indicativos de proliferação

Os fatores indicativos de proliferação celular têm sido bastante estudado como risco de recorrência e utilizados rotineiramente na prática clínica são o índice mitótico, timidina e fases S, Ki-67 e P53. Colozza et al⁽¹²³⁾, realizaram uma revisão de 135 estudos desses fatores proliferativos in 159,516 pacientes com câncer de mama que foram publicados em 2004. Quanto maior o índice mitótico, maior será a taxa de proliferação celular e pior o prognóstico⁽¹²⁴⁾. A atividade proliferativa dos tumores é um bom indicador de resposta a quimioterapia⁽¹²⁵⁾.



A fase S avalia percentual de células tumorais que se encontram em replicação ou síntese celular pela quantificação do DNA. É possível se determinar qual a porcentagem de células de um tumor que se encontram na fase S (síntese de DNA) do ciclo celular. Alguns estudos demonstraram a associação entre a fração de fase S e prognóstico. Estudo do NSABP-14⁽⁵⁵⁾, demonstrou que tumores em fase S aumentada, tiveram maior taxa de recorrência e mortalidade^(126,127). A fração da fase S é um marcador promissor, mas ainda não é utilizado rotineiramente na prática clínica.

O Ki-67 é um anticorpo monoclonal, encontrado no cromossomo 10. É uma proteína nuclear não-histona que está relacionado ao ciclo celular expressa nas células em divisão nas fases G1, S, G2 e M e está ausente na fase G0. O antígeno Ki-67 está relacionado ao grau de proliferação de um tumor sendo considerado um fator de prognóstico. O Ki-67 se relaciona com aneuploidia, período livre de doença e sobrevida⁽¹²⁸⁾.

O escore de Ki-67 é medido em cortes histológicos por IHC, definido como a percentagem de células de carcinoma invasivo que foram coradas. Considera-se que a coloração positiva de mais de 10% das células tumorais que expressam Ki-67 significa alta proliferação, e verificaram pior prognóstico neste caso⁽¹²⁹⁾. O Ki-67 no câncer de mama têm sido investigado como significativo fator de prognóstico desde a análise do resumo da Sociedade Americana de Oncologia Clínica (ASCO)^(123,130). De acordo com St Gallen Consensus de 2009, o índice de proliferação é considerado baixo ou negativo, quando há 14% ou menos de núcleo corados, sendo positivo ou alto quando existem mais do que 14% dos núcleos corados⁽¹³¹⁾. Em análise multivariada, Ross et al.⁽¹³²⁾, 2005, mostraram que só em sete deles, a expressão de Ki-67 representou um fator prognóstico independente dos 19 estudados, mas que, em 17, representou fator negativo em análise univariada. Luporsi et al.⁽¹³³⁾, em outra metanálise de 71 estudos do Ki-67, 17 desses prospectivos, confirmou que o Ki-67 foi um independente fator de prognóstico. O Ki-67 tem relação direta com o tamanho tumoral, grau histológico, invasão vascular estatus axilar. Por outro lado, tem relação inversa com os níveis de receptores hormonais. Em uma meta-análise por Azambuja et al.⁽¹³⁴⁾, com 12.155 pacientes, evidenciou que níveis elevados de Ki-67 são associados a alto risco para recidiva e menor sobrevida, mesmo em pacientes com lifonodos livres de acometimento por metástase.

A proteína p53, codificado pelo gene TP53, localizada no braço 17 do cromossomo, participa do controle da divisão celular, da apoptose, do reparo do DNA lesado, da diferenciação celular e da angiogênese. O P53 é um gene de supressão tumoral, que tem função



de preservar a integridade do genoma e a proliferação celular. Sua ação ocorre por bloquear as células nas fases G1 e S, e induzir à apoptose. São mais comuns nos casos das síndromes hereditárias que em casos esporádicos da doença⁽¹³⁵⁾. Representa o defeito genético dos cânceres e está presente em 14 a 26% dos cânceres de mama, dependendo dos critérios de positividade. A superexpressão de P53 está associada a 1/3 dos carcinomas da mama e apresentam um alto grau histológico e maior agressividade clínica, levando a um menor tempo livre e sobrevida global⁽¹³⁶⁾. Pesquisadores apontaram que a imunoexpressão da proteína p53 reflete o gene alterado é um fator negativo de prognóstico, inclusive na axila negativa⁽¹³⁷⁾. Olivier et al⁽¹³⁵⁾., estudaram 1.794 pacientes com câncer de mama, sugerem que anormalidades no p53 demonstradas no sequenciamento genético estão associados a pior prognóstico.

O fenótipo molecular dos tumores primários de mama está associado a comportamentos mais ou menos agressivos das neoplasias. A sua detecção e quantificação pode ajudar a diferenciar grupos de pacientes de risco aumentado e influenciar decisões terapêuticas. Os tumores primários com receptores negativos, que expressam p53, c-erb-2, estão significativamente associados a menor sobrevida⁽¹³⁸⁾.

2.3.10 Estadiamento

O estadiamento tumoral é critério utilizado para determinar fator de prognóstico da doença e o tipo de tratamento, ou seja, para definir escolha terapêutica adotada para cada paciente. O estadiamento patológico requer exame de espécime tissular, do tumor primário, linfonodos axilares e outros sítios distintos, para confirmar a presença do tumor e tamanho da lesão⁽¹³⁹⁾. Esse estadiamento para cânceres de mama segue a classificação de tumores malignos (TNM) que proporciona algumas características da doença que derivam de indicadores prognósticos⁽¹⁴⁰⁾. Autores chamam a atenção para a necessidade de se adaptar a atual classificação dos carcinomas de mama, adicionando informações relevantes que possam modificar as decisões terapêuticas⁽¹⁴¹⁻¹⁴³⁾.

Dados do SEER evidenciaram que a sobrevida em cinco anos para pacientes em estágio 0 e I é de 100%, para estágio II é de 86%, 57 % para estágio III e de apenas 20% para estágio IV⁽⁴⁸⁾.

O principal propósito a ser conseguido pela concordância internacional na classificação dos casos de câncer pela extensão da doença é fornecer um método que permita comparações entre experiências clínicas sem ambiguidade. Além disso, o estadiamento ainda nos fornece dados sobre implementação de uma nova técnica de diagnóstico ou de tratamento.



O sistema TNM é utilizado para descrever a extensão anatômica da doença tem por base a avaliação de três componentes (Quadros 2 e 3)⁽¹⁴⁴⁾:

T	extensão do tumor primário
N	ausência ou presença e extensão de metástase em linfonodos regionais
M	ausência ou presença de metástase à distância Novos aspectos do estágio tumoral: Devido ao crescimento no uso da mamografia e a grande heterogeneidade em tumores pequenos, novos critérios têm sido introduzidos no sistema TNM: 1. Micrometástase (0,2 para 2mm) são distinguidas de forma isoladas nas células tumorais (menor 0,2 mm) na base tumoral; 2. Têm sido adicionado o uso da dissecação do linfonodo sentinela, imunohistoquímica ou técnicas moleculares; 3. Maior classificação do status dos linfonodos são designados de acordo com o número de linfonodos envolvidos e determinados pela técnica de HE ou IHC; 4. Envolvimento do linfonodo infraclavícula têm sido adicionado N3; 5. Metástase da mama interna têm sido reclassificada, baseado no método de detecção e presença ou ausência de linfonodos axilares. Envolvimento microscópico detectado pelo linfonodo sentinela-N1, envolvimento macroscópico sem envolvimento de imagem ou clínico-N2. Porém, se tiver envolvimento axilar é N3; e 6. Metástase de nódulo supraclavicular é classificado de N3.

**Quadro 2.** Sistema TNM para estadiamento do câncer de mama⁽¹⁴⁴⁾

Classificação Patológica (TNM)	
pT- Tumor primário	
TNM	Descrição
pTx	Tumor primário não pode ser avaliado
pTo	Não há evidência de tumor primário
pTis	Carcinoma <i>in situ</i>
	Carcinoma ductal <i>in situ</i>
	Carcinoma lobular <i>in situ</i>
	Doença de Paget do mamilo sem tumor associado.
	Quando presente o tumor é classificado de acordo com tamanho da lesão.
pT1	Tumor menor ou igual a 2 cm
pt 1mic	Carcinoma microinvasor
pt 1a	Tumor maior que 0,1 e menor ou igual a 0,5 cm
pt 1b	Tumor maior que 0,5 e menor ou igual a 1 cm
pt 1c	Tumor maior que 1 cm e menor ou igual a 2 cm
pT2	Tumor maior que 2cm e menor ou igual a 5 cm
pT3	Tumor maior que 5cm
pT4	Tumor de qualquer tamanho com extensão para:
pt4a	Parede torácica
pt4b	Edema e ulceração da pele
pt4c	4a+4b
pt4d	Carcinoma inflamatório
pN-Linfonodos regionais	
p Nx	Linfonodos regionais não podem ser avaliados
p No	Ausência de metástase para linfonodos regionais
p N1	
p N1mi	Micrometástase (maior que 0,2 mm e menor ou igual a 2mm) em a axila ou cadeia mamária interna)
p N1a	1 a 3 linfonodos axilares ipsilaterais, incluindo pelo menos uma metástase maior que 2mm
p N1b	Linfonodos da mamária interna com metástase microscópica indentificada em linfonodo sentinela.
p N1c	Um a três linfonodos axilares comprometidos, incluindo pelo menos uma metástase maior que 2mm e linfonodos da mamária com metástase microscópicas em linfonodo sentinela.
p N2	
p N2a	Quatro a nove linfonodos axilares, incluindo pelo menos uma metástase maior que 2mm
p N2b	Linfonodos da mamária interna, clinicamente aparentes, na ausência de comprometimento axilar
p N3	
p N3a	10 ou mais linfonodos axilares comprometidos, incluindo pelo menos uma metástase maior que 2mm
	Linfonodo infra-clavicular ipsilateral comprometido
p N3b	Linfonodos da mamária interna comprometidos, na presença de de linfonodos axilares
	Mais de três linfonodos axilares comprometidos e linfonodos da mamária interna com metástase indentificada em linfonodo sentinela.
p N3c	Linfonodos supra-clavicular ipsilateral comprometido
p M-Metástase á distância	
p Mx	Metástase á distância não pode ser avaliada
p Mo	Ausência de metástase á distância
p M1	Presença de metásase á distância

**Quadro 3.** Estadiamento do câncer de mama segundo o sistema TNM⁽¹⁴⁴⁾

Estádio	T	N	M
Estádio 0	Tis	N0	M0
Estádio I A	T1	N0	M0
Estádio I B	T0	N1mi	M0
	T1	N1mi	M0
Estádio IIA	T0,T1,T2	N0,N1	M0
Estádio IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Estádio IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1,N2	M0
Estádio IIIB	T4	N0,N1,N2	M0
Estádio IIIC	Qualquer T	N3	M0
Estádio IV	Qualquer T	Qualquer N	M1

2.3.11 Tumores triplo-negativo

O câncer de mama triplo negativo são aqueles que, somados a uma macro e micromorfologia características são negativos para RE, RP e da proteína do fator do crescimento epidérmico humano 2 HER-2^(101,145,146). É caracterizado por distinção molecular, histológica e características clínicas, com prognóstico desfavorável. Esses tumores inicialmente apresentam alto grau nuclear e histológico⁽¹⁴⁷⁾. O triplo-negativo representa de 10 a 24% dos tipos de câncer mamário e ocorre mais comumente em mulheres negras e hispânicas do que em caucasianas, jovens, em mulheres na pré-menopausa, obesas e mais em estágios avançados⁽¹⁴⁸⁻¹⁵¹⁾. Além destas características, mais de 75% das mulheres que apresentam mutação do gene BRCA1 tem câncer de mama com fenótipo triplo-negativo^(86,152).

São tumores de menor prognóstico quando comparados com outros subtipos moleculares, provavelmente devido a limitação de opções terapêuticas e inerente agressividade, e são caracterizados por recaída e tendência a desenvolvimento de metástase visceral⁽¹⁰⁵⁾. São conhecidos por ter uma recorrência precoce com os primeiros 3 anos após o diagnóstico, a excisão cirúrgica e quando comparado com outros subtipos moleculares^(153,154). Os triplo-negativos são caracterizados por terem metástase mais agressivas⁽¹⁵⁵⁾. Usualmente, pacientes portadoras destes tipos de tumores, tendem a apresentarem uma alta recorrência após o diagnóstico, um pequeno intervalo de doença livre e redução da sobrevida global, especialmente para as pacientes que tiverem fracasso no tratamento⁽¹⁵⁶⁾. As metástases mais comum são para cérebro e óssea e apresenta precocidade de metástases pulmonar e pleural, e menos frequente



para o fígado⁽¹⁵⁷⁾. Muitas pacientes com metástase nos triplo-negativos são primeiramente diagnosticado em tumores em estágios iniciais^(158,159). Os pacientes que são triplo-negativo deveria ser pensado a realização do teste genético com história familiar de câncer de mama e ovariano ou diagnóstico em pacientes jovens. Para serem carcinomas basais devem ser positivos para anticorpos que identificam este grupo celular mais importantes são a CK5/6 (citoqueratina) que são marcadores citoplasmático de células basais. Refere-se a tumores de pior prognóstico, com perfil basaloide e o receptor do fator de crescimento epitelial (EGFR)^(160,161).

As citoqueratinas de alto peso molecular, básica. Identifica, além dos epitélios escamosos, as células basais dos ductos terminais mamários. Podem estar presentes em diversos tumores, mas caracterizam aqueles que são triplo-negativos como “carcinoma de células basais”, sinalizando um comportamento agressivo. O EGFR, este receptor é codificado a partir do gene c-erbB1 e formando parte da família *erb*”. Também se encontra sobreexpresso nos tumores triplo-negativo. A superexpressão do EGFR tem sido associada com um aumento de metástases e pior prognóstico tanto em pacientes com axila positiva ou negativa⁽¹⁶²⁾.

O triplo-negativo do tipo basal apresentam as queratinas mais típicas de células mioepiteliais. Devido á célula mioepitelial estar localizada na área basal dos lóbulos e ductos, por não ser conhecida a origem da célula específica, esse grupo de carcinomas foi denominado do tipo basal. Além dessas queratinas (CK5/6), eles mostram a expressão de outros genes em comum com células mioepiteliais (ex: p-caderina), bem como, numerosos genes relacionados á proliferação celular⁽¹⁶³⁾.

A maioria dos triplo-negativo são do tipo carcinoma ductal, o menos comum inclui o medular, adenoide cístico e metaplásico⁽¹⁶⁴⁾. Cerca de de 65% para 85% dos triplo-negativo são do tipo basal, que inclui uma menor diferenciação e alta proliferação deste fenótipo no câncer de mama, representa um de cinco subtipos moleculares, poém não são completamente idênticos. O KI67 está presente em 20% em 63,86% dos triplo-negativos do subtipo basal⁽¹⁶⁵⁾. Em torno de 23 a 30% do basal pode não ser o triplo-negativo, sendo considerado o não-basal⁽¹⁶⁶⁾. O triplo-negativo não é uma única doença, existe uma classificação onde existe o verdadeiro basal-like 1 e 2 e outros que são considerados não-basal como o imunomodulador, mesenquimal like, mesenquimal *stem cell* e o luminal receptores androgênicos⁽¹⁶⁷⁾.



2.3.12 Perfil genômico

É considerado um fator preditivo no câncer de mama. Os avanços nas técnicas da biologia molecular têm possibilitado gerar uma enorme quantidade de dados, como por exemplo, as pesquisas com células troncos, vacinas recombinantes e sequenciamento de vários genomas⁽¹⁶⁸⁾. As pesquisas sobre o câncer favorecem a compreensão das alterações nas células tumorais, permitindo estratificar e prognosticar melhor as pacientes. O teste genômico não apresenta nenhuma indicação para rastreamento ou diagnóstico precoce do câncer de mama, da mesma maneira não é indicado para avaliação de resposta ao tratamento. A avaliação é independente de qualquer fator de prognóstico, como idade, acometimento linfonodal, tamanho do tumor, receptor de estrógeno, grau histológico.

O perfil genômico é definido através de testes laboratoriais. Os microarrays são microarranjos de DNA, que permite investigar centenas de genes em uma amostra por meio de reação de hibridização. Outra técnica de análise de expressão gênica é a reação em cadeia de polimerase via transcriptase reversa (q RT-PCR), que permite amplificar o DNA no material clínico e, com isso, obter dados para avaliação prognóstica. Sendo originado pelo RNA, o DNA analisado é o que está sendo expresso. A análise molecular para doenças, como o câncer de mama, permite⁽¹⁶⁹⁾:

1. Identificar as diversas lesões gênicas presentes em indivíduos com história familiar (BRCA1, BRCA2 e p53);
2. Definir estratégia para o diagnóstico precoce de pacientes afetadas e para planejamento terapêutico, casos duvidosos do benefício da adjuvância (quimioterapia);
3. Correlação genótipo - fenótipo, permitindo previsão do prognóstico e uma melhor individualização do tratamento em cada caso;
4. Analisar populações específicas quanto à existência de alterações que propicie um maior risco de desenvolvimento do câncer em pessoas de determinada comunidade e familiares.

O perfil genômico é contraindicado em pacientes com critérios clínicos e características tumorais de alto risco de recorrência, por nelas já está estabelecido o benefício da quimioterapia. Segundo Henry et al.⁽¹⁷⁰⁾, se comparado com a avaliação clínica, os testes genéticos resultaram em 30% de divergência de conduta.



Pesquisas confirmaram a correlação entre a análise da chamada “assinatura genética” e o prognóstico do câncer de mama^(31,171). Tanto a Sociedade Americana de Oncologia Clínica (ASCO) em 2007 e o Consenso Internacional de Saint Gallen em 2011 incorporaram o exame nas suas sugestões de conduta^(123,130,131,172). O perfil genômico é contraindicado em pacientes com critérios clínicos e características tumorais de alto risco de recorrência, por nelas já estar bem estabelecidas o benefício da quimioterapia. Segundo Henry et al.⁽¹⁷⁰⁾, se comparado com avaliação clínica, os testes genéticos resultaram em 30% de divergência de conduta.

O microarrays do DNA têm sido usado no significado de melhor entender a biologia tumoral e resultado preditivo, como também a resposta a terapia. Alguns tipos de câncer de mama têm seu perfil molecular estudado através dos genes e expressão do mRNA⁽¹⁷³⁾. O perfil molecular do câncer de mama têm proporcionado importante informações, como o comportamento diferente da biologia tumoral, os genes podem distinguir entre os pacientes de bom ou ruim prognóstico e que o perfil da expressão dos genes poderá informar qual tumor irá responder melhor a terapia específica⁽¹⁷⁴⁾.

Testes genéticos conseguiram comprovar sua capacidade em caracterizar diferentes grupos de pacientes e determinados comportamentos tumorais. Temos o Mammaprint, que avalia 70 genes, que é um teste de avaliação prognóstica do câncer de mama. É o melhor preditor de recidivas precoces (primeiros cinco anos desde o diagnóstico) que a tardia. Segundo van't Veer et al.⁽⁹⁾, é de maior utilidade nos casos de receptores hormonais positivos, apesar de também utilizado em tumor com receptores hormonais negativos. Seu resultado é dicotômico, dado como bom e mau prognóstico. O outro teste mais utilizado é o Oncotype DX, que avalia 21 genes, é utilizado na avaliação de recidiva do câncer de mama em pacientes com receptor hormonal positivo, sem acometimento linfonodal ou comprometido, porém na pós-menopausa. A avaliação é feita através de um escore que vai de 0 a 100. No escore >30 vai ter benefício da quimioterapia, de 18 a 30 sugere-se que não vai haver benefício da quimioterapia, mas a decisão é com base na clínica e nas pacientes com escore <18 sugere mínimo benefício ao esquema terapêutico. No quadro 4 abaixo, temos uma comparação entre os principais testes genéticos⁽¹⁷⁵⁾.

**Quadro 4.** Principais testes genéticos⁽¹⁷⁵⁾.

PARÂMETROS	MAMMAPRINT	ONCOTYPE DX
Estadio	I e II	I e II
Status linfonodal	Negativo para malignidade	Negativo para malignidade
Receptor de estrogênio	Positivo ou negativo	Positivo
Genes avaliados	70 genes	21 genes
Técnica	Microrray	q RT - PCR
Amostra	Material a fresco ou congelado	Fixado em formol e envolvido em parafina
Análise de risco recorrência	5 anos	10 anos

Neste outro quadro, encontra-se as recomendações de indicação dos testes genéticos no câncer de mama.

Quadro 5. Recomendações de indicação de assinatura genética

Instituição	Ano	Assinatura Genética	Recomendações
Sociedade Americana de Oncologia Clínica (ASCO) ⁽¹⁷²⁾	2007	Oncotype DX Mammaprint Breast cancer gene expression	Oncotype DX pode ser utilizado para indicação de quimioterapia. Como ferramenta prognóstica nos casos de receptores de estrogênio positivo e tratados com tamoxifen
Saint Gallen ⁽¹³¹⁾	2011	Oncotype DX Mammaprint	Oncotype DX pode ser utilizado para indicação Mammaprint dados ainda insuficientes

Existem outros métodos de avaliação genética, tais como o *Breast Cancer Index* que serve para avaliação de risco de metástase à distância em pacientes com receptores de estrogênio positivos sem acometimento linfonodal⁽¹⁷⁶⁾. Temos o PAM 50, é um teste do tipo microarray de 50 genes que caracteriza o tumor de mama por subtipo intrínseco. O seu resultado é utilizado para avaliação do risco de recorrência do câncer de mama, é o melhor preditor de informação a longo prazo⁽¹⁷⁷⁾. O Endopredict, é uma técnica de avaliação prognóstica fundamentada em q RT-PCR de 11 genes, para tumores com receptor de estrogênio positivo e HER-2 negativo, visando identificar aqueles de alto e baixo risco para recidiva da doença⁽¹⁷⁸⁾.



PACIENTES E MÉTODOS

3.1 Local do estudo

O estudo foi realizado no Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena, em mulheres com diagnóstico de carcinoma mamário: nas quais foram realizados diferentes tipos de cirurgia desde conservadora (quadrentectomia ou oncoplastia) a radicais, dependendo do seu estadiamento. Este estudo foi realizado no período de 2009 a 2012. Através da análise imunoistoquímico (receptores hormonais e status do HER-2) e as citoqueratinas CK5/6 e EGFR, foram realizados no Imunopat e Laboratório de patologia Luciana Gurgel, laboratório privado de imunoistoquímica, que também presta serviço a pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS).

O Hospital Barão de Lucena (HBL) é um estabelecimento de saúde de alta complexidade, nível terciário do Sistema Único de Saúde (SUS) vinculado ao governo estadual

3.2 População do estudo

Portadoras de câncer de mama invasivo, com idade variando de 20 até 70 anos de idade que foram atendidas e submetidas a cirurgia no Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena, com carcinoma mamário no período entre julho de 2009 e julho de 2012, constituindo um total de 125 mulheres.

3.3 Desenho do estudo

É um estudo Coorte retrospectivo, descritivo, observacional, longitudinal realizado por meio de dados coletados de prontuários.



3.4 Critérios e procedimentos para seleção dos pacientes

3.4.1 Critérios de inclusão

- ❖ Ser paciente operado no HBL e seguimento por três anos devido a carcinoma mamário;
- ❖ Ter sido realizado a análise imunoistoquímica dos receptores hormonais (RE e RP) e do status do HER2. Como também da CK 5/6 e EGFR.

3.4.2 Critérios de exclusão

- ❖ Prontuários no qual não constem resultados de exames de imunoistoquímica para receptores hormonais, de HER2, CK 5/6 e EGFR.

3.5 Definição das variáveis

As variáveis estudadas foram raça, idade, tamanho do tumor, comprometimento axilar, estadiamento pós-operatório pelo critério TNM, tipo histológico, positividade ou não para proteína receptora de estrogênio e progesterona, como também para superexpressão da proteína HER2, fenótipos típicos dos subtipos moleculares, mamografia e ultrassonografia, tipo de procedimento cirúrgico e recorrência.

1. *Raça*: branca e negro com câncer de mama;
2. *Idade*: até 40 anos completos, de 41 a 69 anos e acima de 70 anos;
3. *Tamanho do tumor*: avaliação em centímetro de forma contínua: T1 até 2cm; T2 de 2,1 até 5cm e T3 acima de 5,1cm;
4. *Comprometimento axilar*: medida de forma contínua, agrupadas em: N0 – sem comprometimento axilar; de 1 a 3 linfonodos comprometidos; de - 4 a 9 linfonodos comprometidos; e acima de 10 linfonodos comprometidos;
5. *Estadiamento patológico*: avaliação do tamanho do tumor, de comprometimento axilar e metástase a distância, pelos critérios patológico da AJCC (p TNM)⁽¹⁴⁴⁾;
6. *Tipo histológico*: 1. Ductal; 2. Lobular; 3. Outros (medular, tubular, apócrino, adenocístico, secretório, cribriforme);
7. *Receptores hormonais*: Receptores estrogênio, progesterona e HER2 (negativo);
8. *Grau Histológico*: 1 a 3 = positivo;
9. *Citoqueratinas 5/6 e EGFR*= basal e não-basal;



10. *Mamografia e ultrassonografia mamária*: serão avaliadas pela classificação do BI-RADS: 0=necessita de investigação complementar, I = normal, II = achados benignos, III = provavelmente benignos, IV=achados suspeitos e V =altamente suspeito;
11. *Tipo de cirurgia*: Cirurgia conservadora (quadrectomia ou oncoplastia) e Mastectomia. Realizada avaliação do linfonodo sentinela ou esvaziamento axila;
12. *Recorrência*: se teve recorrência (local) ou metástase.

3.6 Método de coleta

Foram estudados 125 casos (n=125) de biópsias de pacientes portadoras de câncer de mama, arquivadas em blocos de parafina durante um período de julho de 2009 até julho de 2012. Os blocos contendo biópsias fixadas em formalina a 10% de parafina são numerados e guardados em arquivos. Os blocos de parafina com diagnóstico prévio de câncer de mama foram seccionados na espessura de 4 μ m, em micrótomo e os recortes em seguida serão montados em lâminas histológicas desparafinizada e submetidos a coloração com hematoxilina-eosina (HE) para revisão histopatológica pelo patologista.

Após confirmação, serão obtidos novos recortes histológicos para realização da extração imunohistoquímica pesquisadas a expressão dos marcadores biológicos, RE, RP e HER2. Técnicas utilizadas para obtenção da amostra:

❖ *Preparação dos cortes histológicos para o exame imunoistoquímico*

Os cortes histológicos de 3 μ m de espessura serão montados em lâminas histológicas silanizados e após 12 horas colocados em estufa a 50°C por uma hora. Após essas etapas, serão desparafinados com xileno, hidratados em soluções decrescentes de álcool e lavados em água destilada.

As lâminas são deixadas em solução detergente neutro 10% por 2 horas, lavadas em água corrente até retirar todo excesso e imersas sequencialmente em cubas com acetona: 1ª cuba: acetona P A (acetona para análise-pura); 2ª cuba: silano (3-aminopropiltietoxi-silano) a 6% diluído em acetona P.A; 3ª cuba: três mergulhos; 4ª cuba: três mergulhos; 5ª cuba: deixa 1 minuto e depois secar na estufa por 10 minutos.



❖ *Recuperação antigênica*

As lâminas com os cortes histológicos serão incubadas em tampão citrato pH 6,0 por 20 minutos ou TRIS EDTA pH 9,0 a 95°C por 1 hora em panela a vapor. A recuperação antigênica foi realizada por calor úmido.

❖ *Reação imunoistoquímica*

A técnica de imunohistoquímica associa a morfologia com reação com anticorpos, utiliza a especificidade do sistema imunológico para identificar características como expressão de receptores hormonais, índice de proliferação celular (Ki-67), pesquisa de antígenos relacionados com o tipo basal-like (CK5/6 e EGFR) e quantificação da expressão de Her-2

1. Inibição da peroxidase endógena (lavagem com água destilada e oxigenada);
2. Colocação dos reagentes (anticorpos) monoclonal e/ou policlonal por 30 minutos; O anticorpo utilizado para receptor de estrogênio foi o clone ER-ID5 (DAKO), para o receptor de progesterona foi utilizado o clone PGR 636 (DAKO) e para proteína do HER-2/NEU foi o POLICLONAL (DAKO). Foi utilizado a técnica da Estreptavidina-Biotina-Marcada (LSAB+) ou Envision. Para a pesquisa das citoqueratinas (CK5/6) foi utilizado o anticorpo monoclonal house anti-human epidermal growth factor receptor clone E30 (DAKO) e do KI-67 o monoclonal house anti-human KI-67 antigen clone MIB-1;
3. Lavagem em água destilada, contracoloração com hematoxilina, desidratação, montagem e leitura.

3.7 Análise estatística

Os dados foram analisados, anotados e computados em formulários específicos (APÊNDICE A). Para análise dos dados foi construído um banco de dados na planilha eletrônica Microsoft Excel, o qual foi exportado para o software SPSS e realizada a análise. Para avaliar o perfil pessoal e clínico dos pacientes avaliados foram calculadas as frequências percentuais e construídas as respectivas distribuições de frequências. Para avaliar quais os fatores que influenciam no prognóstico de carcinoma de mama tipo basal foram construídas as tabelas de contingência e aplicado o teste Qui-quadrado para independência. Nos casos em que as suposições do testes Qui-quadrado não foram satisfeitas foi aplicado o teste Exato de Fisher. Todas as conclusões foram tiradas considerando o nível de significância de 5%.



3.8 Considerações éticas

Foram seguidos os preceitos éticos determinados pelo Conselho Nacional de Saúde da resolução 466/12 que regulamenta as diretrizes de pesquisa envolvendo seres humanos. Este projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa para apreciação e parecer tendo sido aprovado em 06.12.2012 – CAAE 05038212.7.0000.5.191. Obteve-se carta de anuência do Hospital Barão de Lucena autorizando utilização dos prontuários e blocos e lâminas histológicas para fins de pesquisa (ANEXO A).

Não foi necessário o termo de consentimento livre e esclarecido, pois será retrospectivo através da análise das informações contidas nas respectivas relatórios anatomopatológico originais do HBL. Não ocorreu qualquer agressão à integridade física dos pacientes, pois todas as amostras biológicas a ser estudadas serão provenientes do arquivo do hospital. Respeitando os critérios do Conselho Federal de Medicina de acordo com a resolução 466/2012.

Os dados dos pacientes constam no prontuário e os dados referentes ao estudo estão no protocolo de pesquisa em arquivo pessoal do pesquisador pelo prazo mínimo de cinco anos. Os dados referentes à pesquisa serão mantidos em sigilo, não permitindo a divulgação com a identificação dos pacientes, garantindo a privacidade quanto aos dados confidências envolvidos. O acompanhamento clínico dos indivíduos participantes da pesquisa foi realizado de forma habitual no ambulatório do nosso serviço de mastologia do Hospital Barão de Lucena.



RESULTADOS

Cento e vinte cinco portadoras de câncer de mama que foram submetidas a tratamento cirúrgico no serviço de mastologia do Hospital Barão de Lucena no período de julho de 2009 até julho de 2012. Nessas pacientes, foram estudadas as características clínicas e patológicas dos tumores, e correlacionadas com o perfil dos tumores triplo negativos.

Foram correlacionados os perfis dos tumores triplo negativo basal e não-basal com as seguintes variáveis: a idade, raça, tipo histológico, estadiamento patológico, o número de linfonodos comprometidos, CK5/6, EGFR, KI-67 a classificação do BI-RADS, o tipo de procedimento cirúrgico (mastectomia, setorectomia com esvaziamento axilar ou linfonodo sentinela, reconstrução mamária e técnicas de oncoplastia) e recorrência (presente ou ausente).

Na análise das 125 pacientes, observamos que em 81 (64,8%) dos casos tiveram imunofenótipo basal (CK5/6 e/ou EGFR positivo) e 44 (35,2%) não foram confirmados basal pelo imunofenótipo (CK5/6 negativo; EGFR negativo). Dentre os 81 casos com imunofenótipo basal 49 (60,4%), foram positivas para CK5/6 e 76 (93,8%) para EGFR e 44 (34,3%), foram para ambos os marcadores.

As pacientes tiveram uma média de idade de 49,77 anos com idade média entre 41 e 50 anos. A distribuição das pacientes quanto a faixa etária foi: até 35 anos 4 (4%) pacientes, entre 35 e 45 anos foram 39 (31,2%) pacientes, entre 46 e 59 anos 46 (36,8%) pacientes e 33 pacientes tiveram idade acima de 60 (28,8%) anos. Quando associado esses dados com a do subtipo basal foi mais prevalente no grupo com menos de 35 anos de idade e não-basal na faixa etária de 41 e 50 anos tiveram uma maior incidência, não foi demonstrado uma correlação desses fatores, com $p=0,175$.

Quanto a raça 52 (62,7%) pacientes eram negras e 29 (69,0%) pacientes brancas no subtipo basal. No subtipo não basal, a raça negra foi encontrada em 31 (37,3%) pacientes e em 13 (31,0%) branca. Não houve associação com o subtipo basal e não-basal com a raça, não teve uma representatividade importante com $p=0,479$.



O tipo histológico mais encontrado foi o carcinoma ductal invasivo (CDI) que ocorreu em 111 (88,8%) pacientes, seguido do carcinoma lobular invasivo-CLI em oito (6,4%) pacientes. Os outros tipos de carcinomas verificados foram o medular, tubular e mucinoso que ocorreram em apenas seis (4,8%) pacientes. O tipo histológico no subtipo basal representou 65,8% e no não-basal 34,2 %, e não teve qualquer tipo de correlação com o subtipo basal e não-basal dos triplo-negativo com $p=0,746$.

Com relação ao estágio patológico. O estágio patológico I foi encontrado em 21 pacientes representando 16,8%, o estágio II foi o mais encontrado correspondendo a 66 (52,8%) pacientes, seguido do estágio III em 38 (30,4%) pacientes. Tanto no basal e o não-basal o estadiamento patológico II foi o mais prevalente, sendo encontrado em 43 (65,2%) pacientes e 23 (34,8%) respectivamente. Observou-se ausência de comprometimento axilar em 71 (56,8%) pacientes, de 1 a 3 linfonodos comprometidos em 20 (16,0%), de 4 a 9 linfonodos em 21 (16,8%) e acima de 10 linfonodos em 13 (10,4%) pacientes. Nas pacientes que o acometimento do número de linfonodos era acima de 10 linfonodos associou-se ao subtipo basal. No subtipo basal e não-basal, a ausência de comprometimento axilar foi o mais encontrado nos dois grupos, porém, mesmo nas pacientes que tiveram comprometimento axilar não foi encontrado um p significativo $p=0,615$.

Na avaliação da classificação do BI-RADS[®] no estudo da mamografia, foi observado que 60 (48,0%) pacientes tinham BI-RADS IV, em 37 um BI-RADS V (29,6%) e BI-RADS III em 9 (7,2%) pacientes. Sendo no basal e no não-basal o Birads IV o mais encontrado com uma percentagem de 63,3 % e 36,7% respectivamente. Não se observou correlação entre a categoria do BIRADS e os perfis do triplo-negativo basal e não-basal, com $p= 0,615$. Quanto ao procedimento cirúrgico, o tipo de cirurgia mais realizado foi a cirurgia conservadora com setorectomia com estudo do linfonodo sentinela, setorectomia com esvaziamento axilar e oncoplastia (reconstrução mamária) em 57 (45,6%) pacientes, em outras 68 (54,4%) pacientes foi realizado mastectomia radical. O tipo de procedimento cirúrgico não mostra associação com o triplo-negativo basal e não-basal.

Na avaliação da variável CK5/6 foram positiva em 76 (39,2%) pacientes e negativa em 76 (60,8%), onde o subtipo basal teve uma maior positividade em 49 (97,4%) pacientes e negativo em 2 (2,6%) pacientes e não-basal foram positiva em 2 (2,6%) pacientes e negativo em 42 (56,8%) pacientes, que apresentaram um $p < 0,001$, que foi significativo.



O EGFR apresentou uma positividade em 76 (97,4%) pacientes no subtipo basal e negatividade em 5 (10,6%) pacientes, onde no subtipo não basal teve uma positividade em apenas 2 (2,6%) pacientes e negativo em 42 (89,4%) pacientes, o qual demonstrou um $p < 0,001$.

O tipo histológico que são divididos em três grupos I, II e III, que é um fator de prognóstico importante nos triplo-negativos. O tipo I foi encontrado em 19 (19,8%) pacientes, o tipo II 26 (27,1) e o tipo III 51 (53,1%). No basal o tipo III foi o mais frequente em 86,3% das pacientes e no não-basal 13,7% com $p < 0,002$.

Com relação à recorrência, 30 (24,0%) tiveram metástase, onde 16 (53,3%) pertenciam ao grupo basal e 14 (46,7%) ao grupo não-basal. Tivemos a presença metástase presente em 30 pacientes, representando 16,26% e ausente em 95 (83,74%) pacientes. Nas pacientes que tiveram metástase, a óssea foi a mais frequente em 11 (5,2%) pacientes, seguido da metástase pleuro-pulmonar em seis (2,84%) pacientes. Todos esses dados podem ser vistos na Tabela 1.

**Tabela 1.** Distribuição de frequência dos fatores de perfil pessoal e clínico dos pacientes e tabela de contingência com o subtipo do carcinoma.

Fator avaliado	Subtipo		p-valor
	Basal	Não Basal	
Idade			
<35 anos	4(100,0%)	0(0,0%)	0,175 ²
35 a 45 anos	23(59,0%)	16(41,0%)	
46 a 59 anos	27(58,7%)	19(41,3%)	
60 ou mais	27(75,0%)	9(25,0%)	
Raça			
Negra	52(62,7%)	31(37,3%)	0,479 ¹
Branca	29(69,0%)	13(31,0%)	
CK5/6			
Positivo	49(96,1%)	2(3,9%)	<0,001 ¹
Negativo	32(43,2%)	42(56,8%)	
EGFR			
Positivo	76(97,4%)	2(2,6%)	<0,001 ¹
Negativo	5(10,6%)	42(89,4%)	
KI 67			
Mínimo	15	10	-
Máximo	90	80	-
Média±Desvio padrão	58,8±17,3	30,6±18,8	<0,001 ³
Tipo de Cirurgia			
Mastectomia	45(66,2%)	23(33,8%)	0,920 ²
Quadrantectomia	9(64,3%)	5(35,7%)	
Oncoplastia	12(57,1%)	9(42,9%)	
SET+EA	5(62,5%)	3(37,5%)	
SET+LS	10(71,4%)	4(28,6%)	
Presença de Metastase			
Sim	16(53,3%)	14(46,7%)	0,131 ¹
Não	65(68,4%)	30(31,6%)	
Estadiamento Patológico			
I	12(57,1%)	9(42,9%)	0,683 ¹
II	43(65,2%)	23(34,8%)	
III	26(68,4%)	12(31,6%)	
Histologia			
Ductal	73(65,8%)	38(34,2%)	0,746 ²
Lobular	5(62,5%)	3(37,5%)	
Outros	3(50,0%)	3(50,0%)	
Tipo histológico			
I	11(57,9%)	8(42,1%)	0,002 ¹
II	13(50,0%)	13(50,0%)	
III	44(86,3%)	7(13,7%)	
BIRADS			
0 a 3	19(67,9%)	9(32,1%)	0,918 ¹
4	38(63,3%)	22(36,7%)	
5	24(64,9%)	13(35,1%)	
Linfonodos			
0	43(60,6%)	28(39,4%)	0,615 ¹
1 a 3	13(65,0%)	7(35,0%)	
4 a 9	15(71,4%)	6(28,6%)	
10 ou mais	10(76,9%)	3(23,1%)	

¹p-valor do teste Qui-quadrado (Se p-valor < 0,05 o fator avaliado influencia no subtipo de carcinoma). ²p-valor do teste Exato de Fisher. ³p-valor do teste de t-Student (se p-valor < 0,05 as médias dos dois grupos diferem significativamente).

**Tabela 2.** Modelo logístico para o subtipo segundo os fatores pessoais e clínicos dos pacientes.

Fator avaliado	OR	IC	p-valor ¹
EGFR			
Positivo	5,58 x 10 ⁹	*	0,996
Negativo	1,00	-	
KI 67	1,07	1,01 - 1,13	0,022

¹p-valor do teste de Wald (se p-valor < 0,05 o fator avaliado é determinante para o subtipo Basal). *Não foi possível calcular o intervalo de confiança.

Tabela 3. Teste de comparação da sobrevida entre o perfil pessoal e clínico dos pacientes avaliados.

Fator avaliado	p-valor do teste			
	Log Rank	Breslow	Tarone-ware	Wald
Idade	0,010	0,003	0,005	-
Cor	0,211	0,125	0,160	-
CK5/6	0,137	0,146	0,140	-
EGFR	0,024	0,027	0,025	-
KI 67	-	-	-	0,405
Tipo de Cirurgia	0,657	0,667	0,659	-
Presença de Metástase	0,083	0,040	0,056	-
Estadiamento Patológico	0,036	0,038	0,036	-
Comprometimento linfonodal	0,632	0,690	0,670	-
Histologia	0,134	0,073	0,097	-
Tipo histológico	0,410	0,410	0,410	-
BIRADS	0,236	0,264	0,249	-

Na figura abaixo temos o gráfico de sobrevida dos pacientes segundo a idade, o EGFR e o estadiamento patológico, respectivamente.

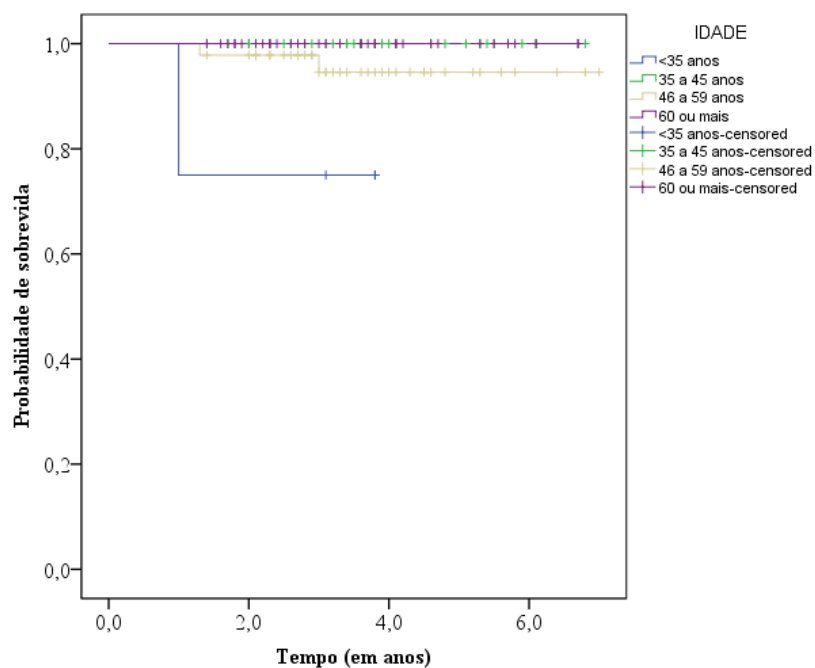


Figura 9. Análise de sobrevida dos pacientes segundo a faixa etária.

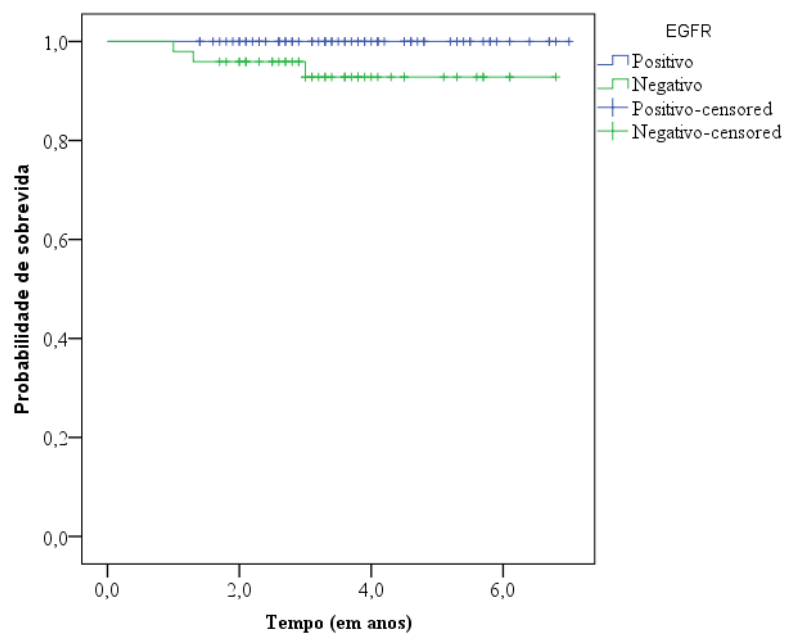


Figura 10. Análise de sobrevida dos pacientes segundo o EGFR.

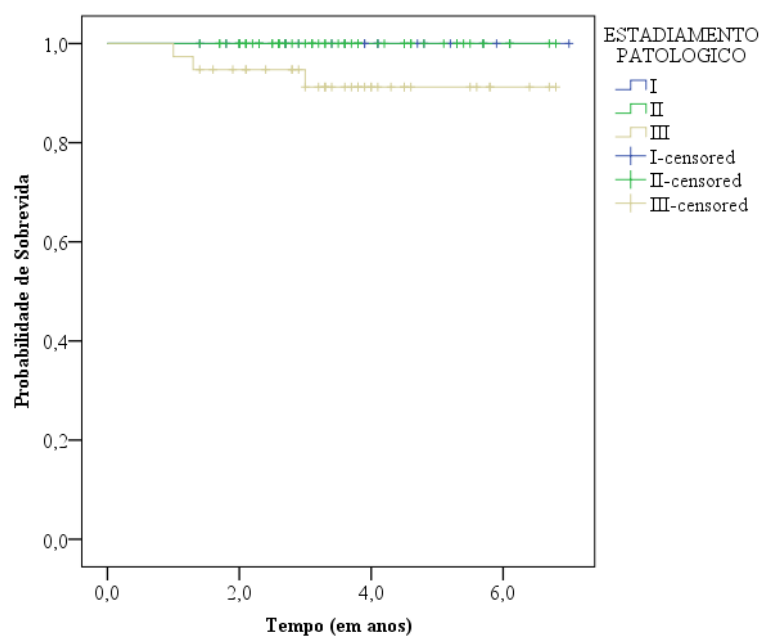


Figura 11. Análise de sobrevida dos pacientes segundo o estadiamento patológico.

Na figura 12 a figura 22 temos a representação gráfica dos fatores de perfil pessoal e clínico dos pacientes avaliados.

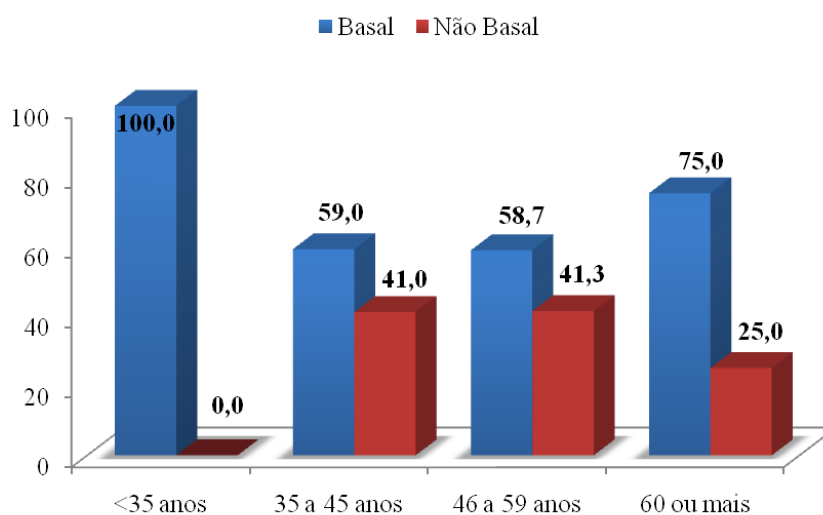


Figura 12. Distribuição dos pacientes segundo a faixa etária e o subtipo.

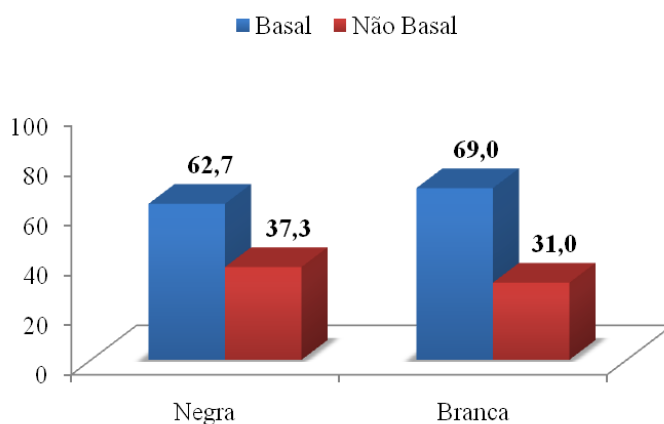


Figura 13. Distribuição dos pacientes segundo a raça e o subtipo.

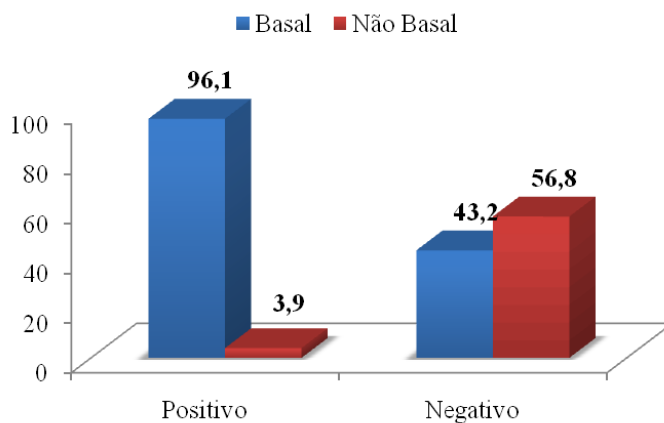


Figura 14. Distribuição dos pacientes segundo a situação do CK5/6 e o subtipo.

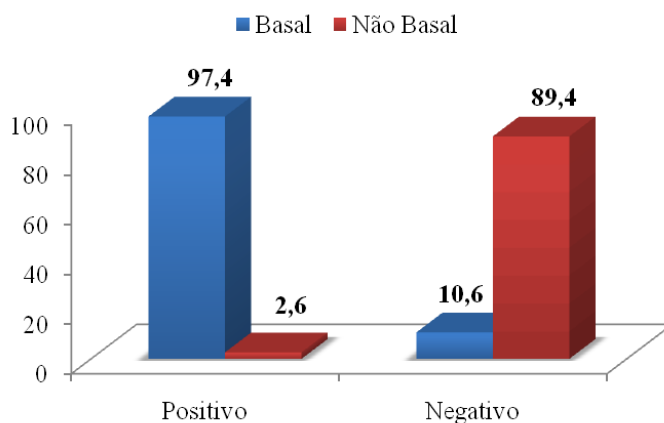


Figura 15. Distribuição dos pacientes segundo a situação do EGFR e o subtipo.

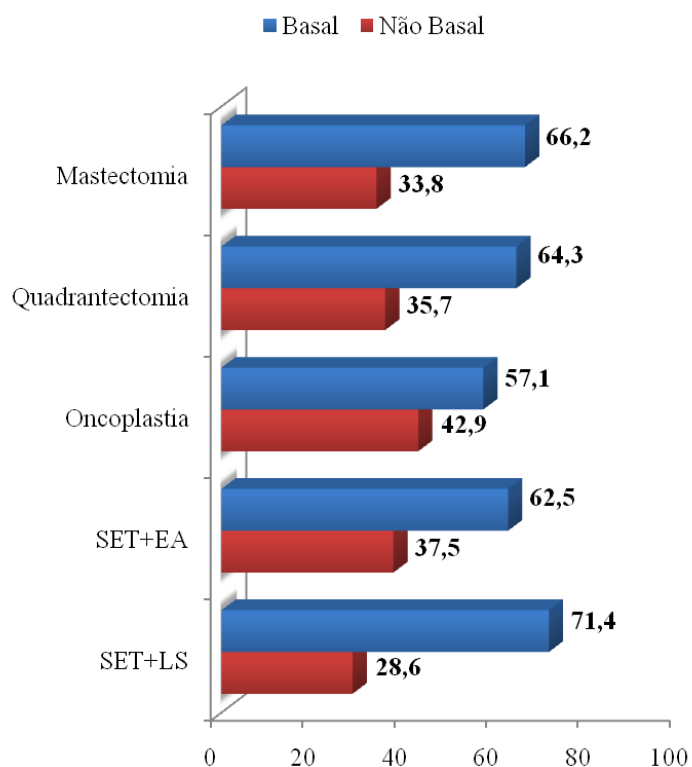


Figura 16. Distribuição dos pacientes segundo o tipo de cirurgia e o subtipo.

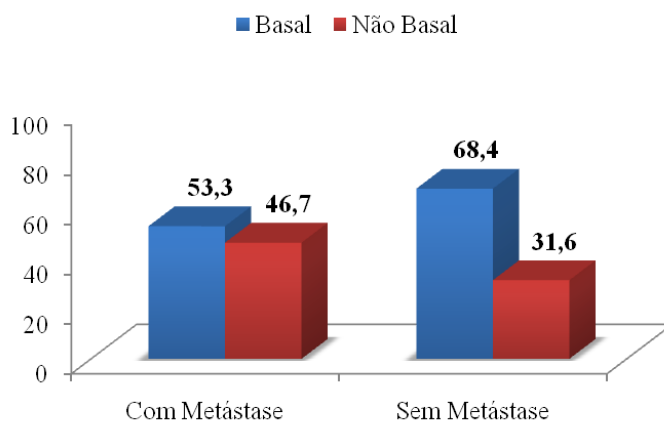


Figura 17. Distribuição dos pacientes segundo Metastase e o subtipo.

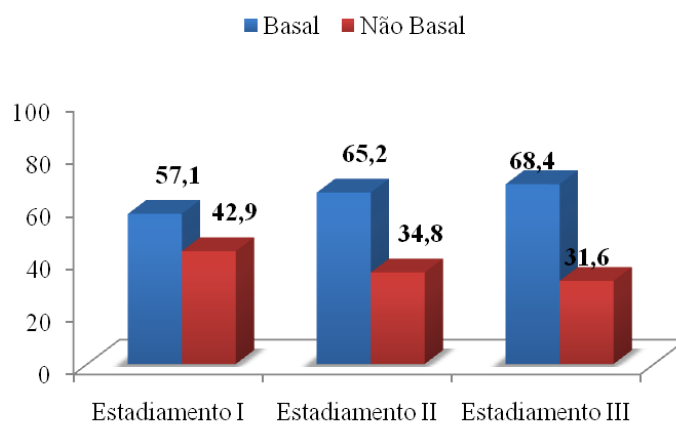


Figura 18. Distribuição dos pacientes segundo o Estadiamento patológico e o subtipo.

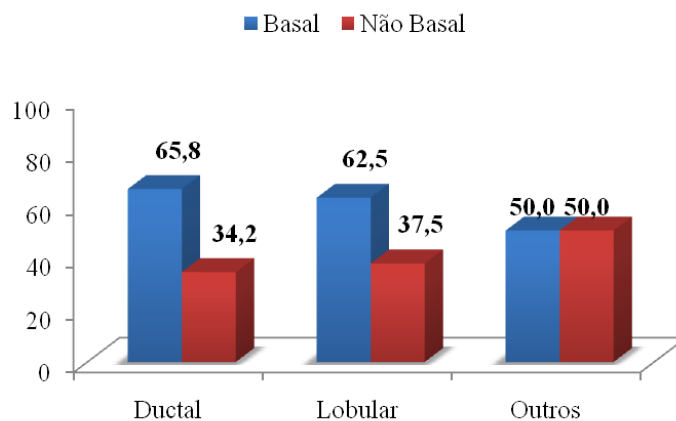


Figura 19. Distribuição dos pacientes segundo a Histologia e o subtipo.

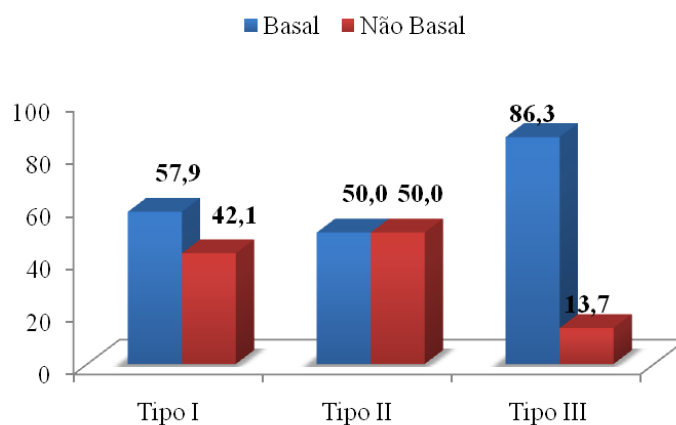


Figura 20. Distribuição dos pacientes segundo o tipo histológico e o subtipo.

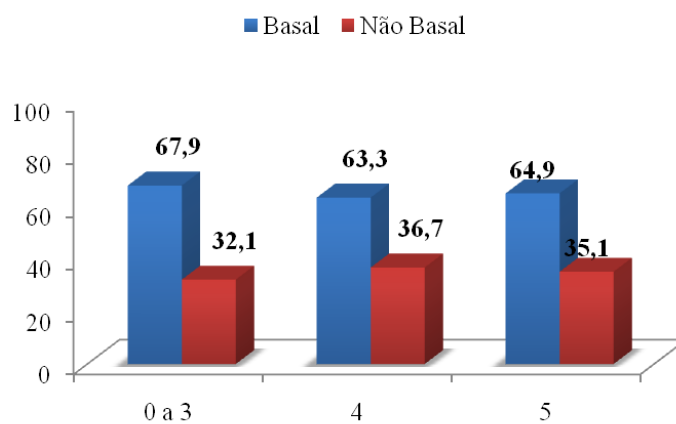


Figura 21. Distribuição dos pacientes segundo o Birads e o subtipo.

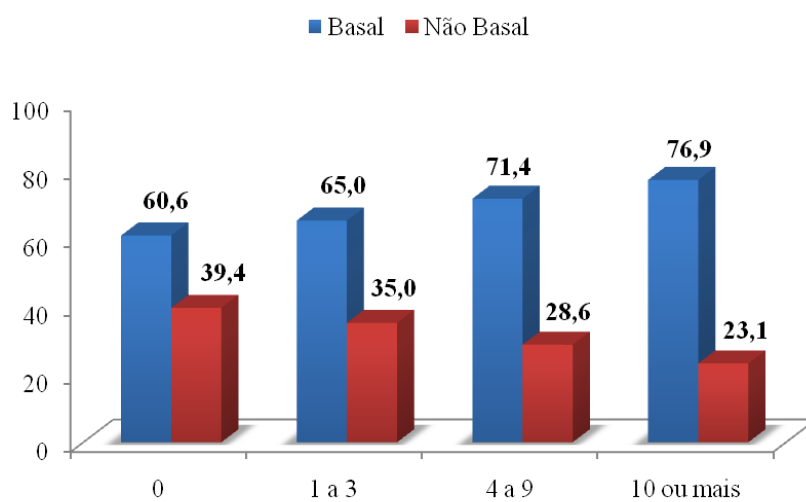


Figura 22. Distribuição dos pacientes segundo o número de linfonodos e o subtipo.



DISCUSSÃO

A história natural do câncer de mama triplo-negativo ainda não é bem compreendida, já que seu comportamento evolutivo não se reproduz de maneira uniforme em todas as mulheres, têm uma característica bastante heterogênea. Devido a esta divergência comportamental de alguns tumores que possuem as mesmas características clínicas, é importante estudar mais fatores prognósticos que envolvem o seu contexto geral. Os tumores triplo-negativo apresentam características epidemiológicas diferentes, como também comportamento e evolução do subtipo basal e não-basal. Assim, têm-se além do diagnóstico da doença em si, aspectos clínicos e biológicos que se associam as diferenças de tempo livre de doença e a sobrevida global⁽¹⁷⁹⁾.

A identificação apropriada de fatores de prognósticos e parâmetros preditivos de responsividade a tratamento específico continua a ser um desafio na individualização da melhor terapêutica para cada paciente⁽¹⁸⁰⁾. Uma série de recomendações para seleção de terapias sistêmicas adjuvantes para os tumores triplos negativos do tipo basal e não-basal foram recentemente proposta na 14th *International Conference on Adjuvant Therapy of Primary Breast Cancer*, em Saint Gallen, Suíça⁽¹³¹⁾.

A expressão aumentada de alguns dessas substâncias biológicas pode estar presente em neoplasias malignas da mama, apresentando relevância do ponto de vista prognóstico. Os mais importantes são os receptores hormonais de estrógeno e progesterona, a expressão da proteína anômala p53 e a amplificação do oncogene HER-2, como também nas pacientes com negatividade para receptores hormonais e da proteína HER-2/neu⁽¹⁸¹⁾.

A idade da paciente à época do diagnóstico é importante por estar diretamente relacionada ao *status* menopausal e, conseqüentemente, à ação hormonal no crescimento tumoral. Mulheres mais velhas, na pós-menopausa, com câncer de mama têm aumento da concentração de RE no tumor e seus cânceres são geralmente bem diferenciados e com baixa taxa de proliferação⁽⁷²⁾. Porém, nas mais jovens é mais frequente a presença dos tumores triplo



negativo e pobremente diferenciado. No nosso estudo, observamos que a idade variou de 22 ± 90 anos, a média foi de 45 anos, ocorrendo numa fase da pré-menopausa, onde 46 pacientes estavam na faixa de 46 a 59 anos, acima da média encontrada na literatura, que ocorre com mais frequência abaixo de 40 anos de idade. Carey et al.⁽¹⁸²⁾, no seu levantamento mostraram uma média de 40 anos de idade. Estudo demonstrou que mulheres jovens, principalmente antes dos 35 anos, têm um pior prognóstico em relação a mulheres mais velhas, na pós-menopausa⁽¹⁸³⁾. Pacientes com tumores grandes, envolvimento ganglionar, negativos para RE, fase S aumentada e anormalidade do p53 são muito comum na idade de 30 a 35 anos⁽⁷²⁾. Em análise multivariada, com associação de outros fatores de prognóstico, ambos os estudos concluíram, que pacientes jovens têm maior tendência a recorrência e morte. Na nossa casuística, as pacientes abaixo de 40 anos, com 27 casos, representaram 33,7% da amostra, demonstrando um crescente aumento do câncer de mama em pacientes mais jovens, possivelmente devido as mudanças no estilo de vida da mulher moderna⁽¹⁸⁴⁾. Estudos com análises multivariadas concluíram que mulheres jovens têm um pior prognóstico, com aumento de risco de recorrência e morte⁽¹⁸⁵⁾. Na correlação com o subtipo basal e não-basal, apresentou um p não significativo nos pacientes examinados. No nossa amostra não houve alteração de prognóstico nos dois subtipos do triplo-negativo $p=0,175$. Porém, nos estudos de Rakha⁽⁸⁶⁾, Perou⁽¹⁰⁵⁾ e Carey⁽¹⁸²⁾ e no estudo de Farzadnia et al⁽¹⁸⁶⁾, não havia correlação entre a idade e fatores de receptores hormonais e a proteína Her-2.

No tocante a raça, a literatura relata, que mulheres de ancestrais afro-americanas apresentam-se em um estágio mais avançado e com maior índice de mortalidade comparado com as mulheres brancas⁽¹⁸⁷⁾. Outros autores têm demonstrado que pacientes negras ou hispânicas apresentam tumores avançados, com linfonodos positivos ao diagnóstico e com fatores indicativos de maior agressividade biológica, como receptores negativos e índice de proliferação alto⁽¹⁸⁸⁾. Um número cada vez maior de câncer é observado em mulheres negras do que nas brancas em pacientes abaixo de 40 anos de idade, e normalmente apresentam um grau nuclear maior, não possuem com frequência, receptores hormonais, são negativos para proteína do Her-2 e sofrem diferentes tipos de mutações esporádicas do p53⁽¹⁸²⁾. No nosso estudo, entre as pacientes que puderam ser avaliadas (125), a raça negra foi a mais acometida, constituindo 83 casos (66,4%). Alguns estudos populacionais mostraram que mulheres negras e hispânicas com câncer de mama têm pior prognóstico em relação as brancas. Existe uma alta prevalência de tumores triplo-negativo em pacientes jovens e negras⁽¹⁸⁹⁾. Outros estudos apresentados nos



encontros da Sociedade Americana de Oncologia Clínica (ASCO)⁽¹⁴⁾, e nas sociedades europeias (ESMO e ECCO) em 2009, e publicado no *Breast Cancer Research* deste mesmo ano, observaram que o padrão imunohistoquímico triplo-negativo foi mais frequentemente encontrado em tumores de mama das mulheres negras do que nos das brancas ou hispânicas. Na nossa amostra, foi evidenciado que os tumores triplo-negativo em pacientes de cor negra, foram encontrados no subtipo basal 52 (62,7%) e no não-basal 31 (37,3%) pacientes, apresentando uma maior prevalência sobre a raça branca.

Em um estudo realizado no nosso país por Carvalho et al.⁽¹⁹⁰⁾, em 2014, encontraram diferenças nos subtipos moleculares nas diversas regiões do nosso país. A região norte do Brasil teve uma maior incidência de triplo-negativo (20,3%), nesta região teve uma maior influência africana (77,8%) quando comparado com o Nordeste (65,5%) e o Centro-Oeste (65,9%), nas regiões Sul e Sudeste esta incidência é menor. Os estudos que comparam diferentes grupos étnicos com o mesmo estadiamento e submetidos a tratamentos equivalentes mostraram que as mulheres negras e hispânicas continuam com pior prognóstico.

A maioria dos diagnósticos de câncer de mama é de tumores de histogênese ductal ou lobular e invasores. Os carcinomas ductais invasivos têm pior prognóstico e maior incidência de acometimento axilar. Os carcinomas ductais constituem a maioria dos carcinomas invasores da mama, correspondendo a cerca de 80% dos casos⁽¹³⁹⁾. Na nossa casuística o tipo histológico ductal foi encontrado em 111 pacientes (88,8%). O índice de sobrevida de 30 anos de mulheres com tipos especiais de carcinomas invasivos (tubular, mucinoso, medular, lobular e papilar) é maior que 60%, comparado com menos de 20 % nas mulheres com carcinoma ductal invasivo do tipo comum⁽¹⁹¹⁾. Dentre os tipos histológicos especiais o papilar puro, tubular e mucinoso que surgem em torno de 2%, são os que apresentam melhor prognóstico⁽⁷⁷⁾. Na amostra atual, os tipos especiais foram encontrados em apenas seis (4,8%) pacientes. O carcinoma lobular invasivo, o qual surge em aproximadamente em 10 % dos casos, apresenta características biológicas e clínicas diferente, pois surge em pacientes mais idosas, são tumores maiores e mostram maior imunoexpressão para RE ou RP, e associam-se com fração da fase S baixa e ter HER-2, p53 e receptor de fator de crescimento epidermal negativo^(85,192). O carcinoma lobular foi encontrado em oito (6,4%) pacientes, devido ao número pequeno de casos, não foi possível verificar associação com os subtipos basais e não-basais. O tamanho tumoral é um fator essencial para estabelecer um prognóstico para as pacientes. Existe uma correlação direta entre tamanho tumoral, acometimento axilar e taxa de recorrência da doença. O tamanho do tumor



guarda relação direta com o comprometimento axilar. O diâmetro do tumor é o segundo fator de prognóstico em grau de importância e é independente da condição do linfonodo⁽¹³⁹⁾. Estudo tem demonstrado uma relação entre o tamanho tumoral e sobrevida. O índice de sobrevida de mulheres com tumor menor que 1cm em 10 anos é de aproximadamente 90%. De outro modo, mais da metade das mulheres com câncer maiores que 2 cm terão maior probabilidade de comprometimento linfonodal, e muitas irão a óbito⁽⁴⁷⁾. O tamanho médio encontrado na nossa casuística foi de 3,79 cm, semelhante ao encontrado por Uemura et al⁽¹⁹³⁾. Os tumores estágio T2 foram encontrados em 96 (46,19%) pacientes e aqueles tidos como T1, em 62 (29,04%) pacientes. É possível que tumores que crescem muito rapidamente em tamanho e sem metástases linfonodais, tenham baixa probabilidade de metástase a distância⁽¹⁹⁴⁾. Pode-se observar, que mais de 70% dos tumores, foram encontrados em estádios iniciais o que possibilitou cirurgias conservadoras, menos mutilantes. Diferentemente, Bacha et al.⁽¹⁹⁵⁾, encontraram relação dos diferentes imunofenótipos (Re, Rp e Her-2) com tamanho de tumores T3 e T4.

Com relação ao estadiamento patológico, o estágio I foram encontrados em 21 (16,8%) pacientes, o estágio II correspondeu a 66 (52,8%) pacientes e o estágio III em 38 (30,4%). Correlacionado o subtipo basal e o não-basal, não foi evidenciada qualquer relação. Por outro lado, Mattes et al.⁽¹⁹⁶⁾, em 2014 encontraram o estágio I em 67,2 %, seguido do estágio II 28,6% em um estudo em diferentes subtipos moleculares. Foi observado que os tumores triplo negativos têm um baixo risco de comprometimento axilar, diferente do dos receptores hormonais positivo e HER-2 que têm uma alta taxa de comprometimento linfonodal. Farzadnia et al.⁽¹⁸⁶⁾, não encontraram correlação entre o pior estágio tumoral e o imunofenótipo do HER-2. Nos estudos de Yuan et al.⁽¹⁹⁷⁾ e Imoto et al.⁽¹⁹⁸⁾, foi observada correlação entre o tamanho tumoral e o proto-oncogene HER-2. Em outro levantamento, realizado por Richi et al.⁽¹⁹⁹⁾, não foi evidenciada relação estatisticamente significativa entre os fatores morfológicos (tamanho tumoral, tipo e grau histológicos) ou moleculares (RE/RP/HER-2/Ki-67/P53) e a ocorrência de metástases. Postulam que existe uma relação contínua entre tumores com baixa velocidade de crescimento, com envolvimento linfonodal axilar tardio e os tumores mais agressivos com metástase precoce para axila⁽⁶²⁾.

A ocorrência de metástases em linfonodos axilares é considerada o mais poderoso e independente parâmetro de prognóstico no câncer de mama, na ausência de metástase à distância⁽²⁰⁰⁾. O acometimento axilar é indicação de terapêutica sistêmica adjuvante. Já nas



pacientes com linfonodos axilares negativos é importante a avaliação de outros fatores de prognósticos tais como o tamanho tumoral, grau histológico, receptores hormonais, idade da paciente e alguns marcadores de proliferação celular para determinar o manuseio terapêutico. Quando os linfonodos se encontram livres de neoplasia, o índice de sobrevida livre de doença em 10 anos é de aproximadamente de 70 a 80 %, nas pacientes com 1 a 3 linfonodos comprometidos é de 35 a 40 % e naquelas com mais de 10 linfonodos comprometidos é de 10 a 15%. A sobrevida em cinco anos para pacientes com axila negativa é de 82% comparada com 45% para as pacientes com 4 a 12 linfonodos comprometidos de acordo com o *National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project* (NSABP). Com a evolução do tratamento cirúrgico do câncer de mama, a técnica do linfonodo sentinela tem se tornado prática cada vez mais comum para avaliação axilar em tumores pequenos. O uso da biópsia do linfonodo sentinela é uma alternativa para abordagem da axila, sem aumentar os custos e evitando as complicações da dissecação axilar⁽²⁰¹⁾. Com relação ao número de linfonodos envolvidos neste estudo, a grande maioria das nossas pacientes 71 (56,8%) não tinham comprometimento axilar, seguido de 1 a 3 linfonodos comprometidos, em 20 (16,0%). Naquelas pacientes que tinham entre de 4 e 9 linfonodos comprometidos 21 (16,8%) e nas pacientes com mais de 10 linfonodos 13 (10,4%), não houve associação com o subtipo basal e não-basal. Os nossos achados são semelhantes ao de Cancelli et al⁽¹⁵¹⁾, que mostraram nas pacientes que não tinham linfonodos comprometidos em 67,4% em ausência de comprometimento axilar. Bacha et al.⁽¹⁹⁵⁾, verificaram que nas pacientes que tinham mais de 10 linfonodos comprometidos, mostraram uma correlação com HER-2 positivo, tinham achado estatisticamente significativo ($p=0,044$). No trabalho de Wang et al.⁽¹⁵⁴⁾, 2010, foram observados uma relação significativa entre os casos que tinham receptores negativos e Her-2 positivo e com axila positiva($p=0,039$).

Em relação a categoria mamográfica BI-RADS^R, a grande maioria das pacientes enquadraram-se no BI-RADS 4 perfazendo 60 pacientes(48,0%) e o BI-RADS 5 em 37 pacientes (29,6%). Quando este estudo do BI-RADS foi correlacionado com o subtipo basal e não-basal, não foi evidenciado qualquer tipo de diferença do p. Porém, Wang et al.⁽¹⁵⁴⁾, estudando 267 pacientes com câncer de mama, 40 pacientes que tinham RE/RP/HER-2 negativo e com achados mamográficos com imagem nodular, com margens indistintas e distorção arquitetural, sugeriu mais rápida carcinogênese na evolução dessas pacientes que mais chance de desenvolver o câncer de mama. Oktay et al.⁽²⁰²⁾, no seu trabalho em 103 pacientes,



observaram que o BIRADS IV foi mais frequentemente encontrado nos tumores triplo-negativo do que o BIRADS V.

Pela avaliação do tamanho tumoral, exame histológico e classificação do BI-RADS, foi definido o tipo de procedimento cirúrgico realizado nas pacientes. Observamos que a cirurgia de mastectomia foi utilizada em 68 (54,4%) pacientes, Cirurgia conservadora com linfonodo sentinela ou esvaziamento axilar em 36 (28,8%) pacientes e técnicas de oncoplastia em 21 (16,8%). Esses dados demonstram, que têm ocorrido ainda mais cirurgias mutiladoras, porém com equilíbrio bastante interessante da mastectomia e com a cirurgia conservadora no nosso meio, devido principalmente ao aumento no diagnóstico precoce do câncer de mama. A utilização das técnicas de oncoplastia em muitos dos casos, visa tratamento minino e efeito máximo, sempre respeitando os princípios da cirurgia oncológica clássica. Com estes resultados, acredita-se que em um futuro as cirurgias conservadoras superem as radicais e com utilização de técnicas de oncoplastia. Diferentemente, no trabalho de Vallejos et al.⁽²⁰³⁾, em um total de 1.198 pacientes com câncer de mama, em cerca de 70 e 75% das pacientes foi realizada cirurgia de mastectomia radical e no restante procedeu-se a cirurgia conservadora. Na correlação com o sub-grupo basal e não-basal com o tipo de cirurgia não foi encontrada qualquer significância.

A disseminação do câncer de mama é um acometimento muito frequente, pois desde o momento do diagnóstico, cerca de 5% das pacientes se apresentam com doença a distância *National Cancer Statistic Review*⁽²⁰⁴⁾. Os locais mais freqüentes de metastatização são partes moles, ossos, fígado e pulmões⁽²⁰⁵⁾. Nas pacientes que receberam terapia adjuvante há redução significativa do percentual de recidivas da doença local ou das partes moles. A doença na fase metastática, sempre apresenta um prognóstico desfavorável, com sobrevida média variando entre 24 e 42 meses e taxa de sobrevida média em 5 a 10 anos. Os objetivos do tratamento da doença metastática são fundamentalmente prolongar a sobrevida e a palição dos sintomas. Durante o período de avaliação da nossa casuística, todas as pacientes foram acompanhadas e avaliadas no seguimento da presença ou ausência de metástase á distância. Foi evidenciada metástase em 30 pacientes, o que representou 24% e sua ausência em 95 pacientes que representou 76 %. O local mais frequente de metástase foi a ossea em 14 pacientes, com percentagem de 46,6%, seguida de metastase pulmonar e hepática cinco pacientes para cada um num total de 10 (33,3%) pacientes. Em um levantamento interessante de Koo et al.⁽²⁰⁶⁾, em 34 casos de câncer de mama metastático, foram observados diferentes tipos de resultados



imunohistoquímicos nos diferentes sítios metastático. Nas lesões hepáticas o RE/RP+ e HER-2- era o mais predominante, na metástase cerebral o tipo HER-2 superexpresso era o mais comum. Nas lesões ósseas predominaram os tumores triplo-negativo. Foerster et al.⁽²⁰⁷⁾, observou que as pacientes com tumores triplo-negativo têm um pior prognóstico bastante significativo do que as pacientes com um fenótipo de receptores positivos. Bollen et al.⁽²⁰⁸⁾, observou que as pacientes com metástase óssea no triplo-negativo tinham uma media de sobrevida de 6,7 meses, diferentemente das pacientes que tinham receptores positivos que tinham um tempo de 22,5 meses. No nosso levantamento, não foi verificado uma correlação da presença ou ausência de metástase com o grupo basal e o não-basal.

Ao lado de parâmetros clássicos como o estadiamento TNM e os marcadores de proliferação celular, outros marcadores tumorais têm sido utilizados para à predição do comportamento tumoral e também da resposta à terapêutica no câncer de mama. Dentre os marcadores aferidos pelo exame de imunoistoquímica, os mais utilizados na prática clinica são os receptores hormonais e o Her-2⁽¹⁶²⁾. A célula normal de mama apresenta receptores de estrógeno e progesterona em seus núcleos e são detectados através do método de imunoistoquímica. O nível de receptores para hormônios esteróides, estradiol (RE) e/ou progesterona (RPg) no tecido tumoral constitui forte indício do grau de dependência hormonal da neoplasia mamária⁽¹³⁾. As mulheres com cânceres positivo para os receptores hormonais têm um prognóstico levemente melhor do que as mulheres com carcinomas negativos aos receptores hormonais⁽²⁰⁹⁾. A avaliação dos receptores hormonais é mais valiosa para predizer resposta á terapia,tendo uma excelente resposta a terapia hormonal nos casos positivos, e pouca ou nenhuma resposta a este tipo de tratamento nos casos negativos⁽²¹⁰⁾. A superexpressão do HER-2 está associada a um prognóstico ruim, porém sua avaliação tem sido mais utilizada para determinar a resposta á terapia especifica. Os tumores triplo-negativos representam cerca de 15% do total dos tumores da mama e acometem com maior frequência pacientes jovens, habitualmente antes da menopausa⁽²¹¹⁾. Vallegos et al.⁽²⁰³⁾, em levantamento de 1524 pacientes,verificou-se que aproximadamente metade de todos os casos foram classificados como RE/RP positivo e HER-2 negativo correspondendo a 49,3% e a cerca de 13,2%, foram identificados como RE/RP/HER-2 positivo. O triplo negativo (RE/RP/HER-2 negativo) foi evidenciado em 21,4% das pacientes, demonstrando um resultado muito semelhante ao encontrado no nosso trabalho. Wang et al.⁽¹⁵⁴⁾, encontraram o triplo negativo em 16,9% das 835



pacientes com câncer de mama, e que essas pacientes estão mais predispostas a desenvolver metástase à distância.

Em recente revisão, Carey et al.⁽¹⁸²⁾, achou prevalência do nível elevado do Her-2 entre 0 e 38%, com média de 18%, em mulheres com câncer de mama. Neste estudo, encontramos positividade de 32% das pacientes

Novas técnicas de biologia molecular permitem a determinação de verdadeiras assinaturas genéticas do tumor, ao analisar milhares de genes simultaneamente. Surge nova era de fatores prognóstico e preditivos na resposta ao tratamento do câncer de mama⁽¹⁰⁵⁾. Esses tumores são classificados em cinco subtipos: luminal A, luminal B, epitelial normal, basal e superexpressão do Her-2. Foi verificado que os tumores de bom prognóstico são o luminal A e B e epitelial normal, ao passo que a evolução é no pior no tipo basal e no superexpressor de Her-2. Apesar de não ter sido realizado estudo de assinatura genética no nosso trabalho, tentamos classificar de acordo com os critérios imunoistoquímico os diferentes grupos.. Existem trabalhos que utilizam a imunohistoquímica na sub-divisão desses grupos genéticos, todavia são necessários estudos prospectivos de grande porte para verificar a correlação entre esses achados e a classificação genética⁽²⁰³⁾. O método de assinatura genética trouxe mais informações prognósticas independentes em relação aos fatores prognósticos clínico-patológicos e recomendam que a amplificação gênica e a superexpressão da proteína Her-2 possuem um papel fundamental na transformação oncogênica, gênese tumoral e metástases⁽²¹²⁾.

Após análise da imunohistoquímica do EGFR, citoqueratina CK5/6 e ki-67, constatamos que estes marcadores são extremamente associados com os carcinomas de mama triplos negativos, em 49 pacientes tiveram positividade para o CK5/6 e sendo negativa em 32 para o subtipo basal. Este tipo de carcinoma basal é distinguido pela expressão de queratinas que são mais típicas de células mioepiteliais. O EGFR estava superexpresso em 76 pacientes (97,4%), que é bastante característico no subtipo basal nos triplos-negativos, que apresentou uma significância. Nossos resultados também demonstraram que os tumores triplo-negativo têm uma maior expressão da proliferação do KI-67 no subtipo basal com 58,8% do que no não – basal 30,6%, o que está associado a um pior prognóstico na evolução da doença, onde normalmente apresentam um escore maior do que 15. No teste de comparação de média para o fator KI-67 foi significativo, indicando que, em média, o valor deste marcador difere entre o grupo de pacientes basal e não-basal. Mesmo sendo observada essa maior prevalência nestes



grupos o teste de independência foi significativo apenas nos fatores CK5/6, EGFR e o tipo histológico, indicando que esses fatores são determinantes para este tipo de subtipo do carcinoma. Kanapathy et al.⁽²¹³⁾, em 340 pacientes com diagnóstico de câncer de mama, 12,4%(42) eram triplo negativo e que estavam fortemente associado com EGFR, CK5/6 e com alto índice de proliferação do Ki-67.

Os tumores do subtipo basal supostamente se originam de células basais dos ductos mamários em virtude da expressão das citoqueratinas 5 e 6, o que demonstrou um p significativo na nossa casuística, o que demonstra uma maior agressividade desses tumores.

Observamos o ajuste do modelo logístico para o subtipo segundo os fatores pessoais e clínicos dos pacientes. Através dela verifica-se que apenas o EGFR e o valor de KI67 foram conjuntamente significativos para o subtipo. Ainda, observa-se que o EGFR permanece no modelo como fator de correção (p-valor = 0,996) e apenas o KI67 foi significativo (p-valor = 0,022). Além disso, o aumento do KI 67 em uma unidade aumenta em 7% a chance do paciente apresentar o subtipo basal.

Na avaliação da sobrevida dos pacientes, observamos na tabela 3 temos os testes de comparação entre o perfil pessoal e clínico desses pacientes com a sobrevida. Através dela verifica-se que a cor, CK 5/6, tipo de cirurgia, presença de metástase, histologia, tipo histológico e BIRADS não são variáveis estatisticamente significativas para a sobrevida dos pacientes com câncer. Porém, os fatores idade, EGFR e estadiamento patológico apresentaram-se significativos para determinação da sobrevida do paciente (p-valor < 0,05 em todos os testes aplicados). As pacientes que apresentam o tipo basal e mesmo aquelas pacientes do sub-tipo não-basal nos triplos negativos apresentaram um pior prognóstico clínico e de maior complexidade na terapêutica adjuvante. É importante salientar que a presença de metástase e o tipo histológico foram muito próximo da significância nos três testes aplicados indicando que existe uma tendência dessas variáveis possam influenciar no tempo da sobrevida do paciente.

Algumas de nossas pacientes fizeram tratamento de quimioterapia neoadjuvante e adjuvante no câncer triplo negativo. A quimioterapia neoadjuvante foi indicada nos casos de tumores localmente avançados, foi escolhido o esquema antracíclico e taxanos, que mostrou neste grupo melhor taxa de resposta patológica completa (PCR) na mama e axila de 43,2%, para pacientes com receptores hormonais negativos, comparado com 6% quando os dois receptores forem positivos^(214,215). Tem sido consistentemente demonstrado que a PCR é muito bom fator prognóstico para benefício a longo prazo, especialmente para pacientes triplo-



negativo^(155,218), que em geral alcançam taxas de 28- 32% de PCR⁽²¹⁶⁾. O esquema baseado em antracíclico e taxano deve ser sempre que possível o de escolha pelas melhores taxas de PCR^(216,217). Há evidências experimentais que a adição de sais de platina possa ser benéfica nos triplo negativos, e principalmente, nos pacientes com mutação de BRCA1⁽²¹⁷⁾.

O estudo dos fatores de prognósticos do câncer de mama é fundamental, como forma de prever evolução da doença bem como instituir terapêuticas específicas que resultarão na melhora na sobrevida livre da doença e sobrevida global das mulheres acometidas pelo câncer de mama. Atualmente observa-se cada vez mais, que o estudo da biologia molecular, incluindo assinatura genética, têm sido importante para definir a sensibilidade terapêutica e estudar melhor tumores pequenos, axila livre e considerados de bom prognóstico, podem recorrer, e outros, às vezes considerados complicados, exibem evolução favorável. A avaliação do sub tipo molecular triplo negativo basal e não basal têm uma grande importância e valor da identificação das pacientes de pior prognóstico. É importante, não basear um diagnóstico exclusivamente dos resultados das reações da imunoistoquímica. É necessário compara-los com os achados histopatológicos e com os dados clínicos e de imagem do caso.



CONCLUSÕES

Os tumores triplo negativo basal e não-basal são entidades distintas. No seguimento de 3 anos o fator de prognóstico que mais influenciou o subtipo basal e não basal foram a idade em pacientes jovens, o tipo histológico, a citoqueratina CK 5/6 e com grau de significância maior nos fatores EGFR e KI-67.



REFERÊNCIAS

1. Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol.* 2001;2(9):533-43.
2. Tavassoli FA, Devilee P. (editors). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumors of the breast and female genital organs. Lyon: IARC Press; 2003.
3. Who. A month to remember-Breast cancer Awareness. Disponível em: <<http://www.who.int/entity/mediacentre/commmentanied/breast.cancer-awareress/en/38k>>. Cancer statistic reman gnum worldwide:in 2012>. Acesso em: 25 de set 2015.
4. American Cancer Society. Leading sites of new cancer cases and deaths-2015 estimates. Disponível em: <http://www.cancer.org/download/stt/leading_Sites_of_New_Cancer_Cases_and_Deaths>. Acesso em: 25 de set 2015.
5. WHO. An assessment of GLOBOCAN methods for deriving. Disponível em: <http://www.who.int/entity/volumes/9/4/8/5/64384/en/64k> 2013>. Acesso em: 25 de set 2015.
6. Instituto Nacional de Câncer (INCA). Estimativas 2010: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2009. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/agencianoticias/site/home/noticias/2009/lançamento_estimativa_2010>. Acesso em: 15 de nov 2016.
7. Birnbaum D, Bertucci F, Ginestier C, Tagett R, Jacquemier J, Charafe-Jauffret E, et al. Basal and luminal breast cancers: basic or luminous? *Int J Oncol.* 2004;25(2):249-58.
8. Page DL, Jensen RA, Simpson JF. Routinely available indicators of prognosis in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.*1998;51(3):195-208.
9. van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature.* 2002;415(6871):530-6.



10. Page DL. Breast cancer pathology reporting practice and guidelines. *J Am Coll Surg*. 2003;196(1):89-90.
11. Lester SC. A Mama. In: Robbins C, Susan C, editores. *Bases Patológicas das doenças*. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. p.1189-97.
12. Skaland I, van Diest PJ, Jassen EA, Gudlaugsson E, Baak JP. Prognostic differences of World Health Organization: assessed mitotic activity index and mitotic impression by quick scanning in invasive ductal cancer patients younger than 55 years. *Hum Pathol*. 2008;39(4):584-90.
13. Reis-Filho JS, Westbury C, Pierga JY. The impact of expression profiling on prognostic and predictive testing in breast cancer. *J Clin Pathol*. 2006;59(3): 225-31.
14. Wolf AC, Hammond MEH, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists. Recommendation for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast. Guideline update 2013. *J Clin Oncol*. 2013; 31(31):3997-4013.
15. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AH, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer*. 2007;109(1):25-32.
16. IARC. International Agency for Research on Cancer. Disponível em: <http://www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2013/pdfs/pr223_E.pdf>. Acesso em: 09 dez 2014.
17. Black RJ, Bray F, Ferlay J, Parkin DM. Cancer incidence and mortality in the European Union: cancer registry data and estimates of national incidence for 1990. *Eur J Cancer*. 1997; 33(7):1075-107.
18. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB, editors. *Cancer incidence in five continents, vol VII*. International Agency for research on cancer. Scientific Publications n° 143. Lyon: IARC; 1997.
19. Ferlay J, Soerjomataram I, Diskshuit R, Eser S, Mathers C, Rabelo M. Worldwide sauses, methods and major patterns in Globocan. *Int J Cancer*. 2015;36(5):559-86.
20. Lee J, Lee S, Bae Y. Multiple margin positive of frozen section risk factor for local recurrence. *J Breast Cancer*. 2012;15(4):420-6.
21. Soerjomataram I, Trenlent D, Parkin DM, Ferlay J, Matheus S. Global burden of cancer in 2008: a systematic analysis of disability life years in 12 world regard. *Lancet*. 2012; 380(9856):1840-50.



22. INCA. Tipos de câncer. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tipo_cancer/ste/home> Acesso em: 9 dez 2014.
23. Schwartzmann G. Breast cancer in South America: challenges to improve early detection and medical management of a public health problem. *J Clin Oncol*. 2001;19:118-24.
24. Gonçalves ATC, Jobim PFC, Vanacor R, Nunes LN, Albuquerque IM, Bozzetti MC. Câncer de mama: mortalidade crescente na Região Sul do Brasil entre 1980 e 2002. *Cad Saúde Pública*. 2007;23(8):1785-90.
25. Rosai J. editor. *Ackerman's Surgical Pathology*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier; 2011.
26. Bertos NR, Park M. Review series of breast câncer, one term, many entities? *J Clin Invest*. 2011;121(10):3789-90.
27. Tlsty TD, Hein PW. Know the neighbor: Stromal cells can contribute signals. *Curr Opin Genet Dev*. 2001;11(1):54-9.
28. Burstein HJ, Polyak K, Wang JS, Lestes SC, Koelin CM. Ductal carcinoma in situ of the breast. *N Engl J Med*. 2004;350(14):1430-41.
29. Page DL, Dunpont WD. Anatomic markers of human premalignancy and risk of cancer. *Cancer*. 1990;66(Suppl 6):1326-35.
30. Singletary SE. A working model for the time sequence of genetic changes in breast tumorigenesis. *J Am Cell Surg*. 2002;194(2):202-16.
31. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, Dai H, Hart AAM, Voskuil DW, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med*. 2002;347(12): 1999-2009.
32. Yager JD, Davidson NE. Estrogen carcinogenesis in breast cancer. *N Engl J Med*. 2006;354(3):270-82.
33. Russo J, Balogh GA, Heulings R, Mailo DA, Moral R, Russo PA, et al. Molecular basis of pregnancy induced cancer protection. *Eur J Cancer Prev*. 2006;15(4):306-42.
34. von Fournier D, Weber E, Hoeffken W, Bauer M, Kubli F, Barth V. Growth rates of 147 carcinomas of mammary carcinoma. *Cancer*. 1980;45(8):2198-207.
35. Venâncio AFA, Filho AL, Montenegro M, Brito T, Bacchi C, Almeida P. (editores) *Patologia Processo Gerais*. 6^a ed. São Paulo: Atheneu; 2010.
36. Al-Rawi MAA, Mansel RE, Jiang WG. Molecular and celular mechanisms of lymphangio-genesis. *Eur J Surg Oncol*. 2003;31(2):117-21.



37. Guidi AJ, Fischer L, Harris Jr, Schnitt SJ. Microvessel density and distribution in carcinoma in situ. *J Natl Cancer Inst.* 1994;86(8):614-19.
38. Gaforio JJ, Serrano MJ, Sanchez-Rovira P, Sirvent A, Delgado-Rodriguez M, Campos M, et al. Detection of breast cancer cells in peripheral blood is positively correlated with estrogen receptor status and predicts for poor prognosis. *Int J Cancer.* 2003; 20:(07/6):984-90.
39. Racila E, Eutaus D, Wess AJ, Rao C, Connell J, Terstappen LW, Uhr JN. Detection and characterization of carcinoma cells in the blood. *Proc Nat Acad Sci.* 1998;14:95(8):4589-94.
40. Braun S, Naume B. Circulating and disseminated tumor cells. *J Clin Oncol.* 2005;23(8): 1623-6.
41. Del Giglio A, Burgos ARM, Weinschenker PB. O estudo da doença residual mínima em câncer de mama. *Rev Bras Mastol.* 2005;15(4):190-7.
42. Wyke JA. Overview-burgeoning promise in metastasis research. *Eur J Cancer.* 2000; 36(13):1589-94.
43. Cifuentes N, Pickren JN. Metastases from carcinoma of mammary gland: on autopsy study. *J Surg Oncol.* 1979;11(3):193-205.
44. Li F, Tiede B, Massague J, Kang Y. Beyond tumorigenesis: cancer stem cells in metastasis. *Cell Research.* 2007;17(1):3-14.
45. Dhingra K, Hortobagyi GN. Critical evaluation of prognostic factors. *Semin Oncol.* 1996;23:436-45.
46. Einsenberg AJA, Koifman S. Câncer de mama: marcadores tumorais. *Rev Bras Cancerol.* 2001;47(4):377-88.
47. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24.740 breast cancer cases. *Cancer.* 1989;63(1):181-7.
48. Ries LAG, Elstner MP. Cancer de female breast. In: Ries LAG, Young JL, Keel GE, editors. *SEER survival monograph: cancer survival among adults: U.S SEER program, 1988-2001, patient and tumor characteristics* NIH. Bethesda: National Cancer Institute. SEER Program; 2007. p.101-10.
49. Adair F, Berg J, Joubert L, Robbins GF. Long term follow-up of breast cancer patients: the 30-year report. *Cancer.* 1974;33(4):1145-50.



50. Rosen PP, Grashen S, Kinne DN, Norton, L. Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma; analysis of 767, T1 N0 M0 patients with long-term follow-up. *J Clin Oncol.* 1993;11(11):2090-100.
51. Koscielny S, Tubiana M, Lê MG, Valleron AJ, Mouriesse H, Contesso G, et al. Breast cancer: relationship between the size of the primary tumour and the probability of metastatic dissemination. *Br J Cancer.* 1984;49(6):709-15.
52. Fisher ER, Sass R, Fischer B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Project for Breast Cancer (Protocol 04). *Cancer.* 1984;53(3):712-23.
53. Henson DE, Ries C, Freedman LS, Carriaga M. Relationship among outcome, stage of disease, and histologic grade for 22,616 cases of breast cancer: the basis for prognostic index. *Cancer.* 1991;68(1):2142-9.
54. Seidman JD, Schnaper LA, Aisner SC. Relationship of the size of the invasive component of the primary breast carcinoma to axillary lymph node metastasis. *Cancer.* 1995;75(1):65-71.
55. Fisher B, Bauer M, Wickerham D, Redmond CK, Fisher ER, Cruz AB, et al. Relation of the number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. An NSABP Update. *Cancer.* 1983;52(9):1551-7.
56. Cody HS, Urban JA. Internal mammary node status a major prognosticator in axillary node negative breast cancer. *Ann Surg Oncolog.* 1995;2(1):32-7.
57. Goldhirsh A, Wood WC, Senn HJ, Glick JH, Gelber RD. Meeting Highlights: International consensus panels on the frequent primary breast cancer. *J Noth Cancer.* 1995;87(19):1441-5.
58. Hilsenback SG, Ravdin PM, de Moor CA, Chamness GC, Osborne CK, Clark GM. Time-dependence of hazard ratios for prognostic factors in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1998;52(1-3):227-37.
59. Wilking N, Rutquist LE, Carestensen J, Mattsson A, Skoog L. Prognostic significance of axillary nodal status in primary breast cancer in a relation to the number of resected nodes. *Acta Oncol.* 1992;31(1):29-35.
60. Saez RA, McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors in breast cancer. *Semin Surg Oncol.* 1989;5(2):102-10.
61. Weigelt B, Geyer FC, Reis-Filho JS. Histological types of breast cancer? *Mol Oncol.* 2010;4(3):192-208.



62. Veronesi U, Galimberti V, Zurrada S, Merson M, Greco M, Luini A. Prognostic significance of number and level al axillary nome metastases in breast cancer. *Breast*. 1993;2(4):224-8.
63. Clark GM, Guire NL. New Biologic prognostic factors in breast cancer. *Oncology*. 1989;3(5):49-54.
64. Michaelson JS, Silverstein M, Sgnoi D, Cheongsiatomy JA, Taghian A, Powell S, et al. The effect of tumor size and lymph node status in breast carcinoma lethality. *Cancer*. 2003;98(10):2133-43.
65. Wiechmann L, Sampson M, Stempel M, Jacks LM, Patil SM, King T, et al. Presenting features of breast cancer differ by molecular subtype. *Ann Surg Oncol*. 2009;16(10):2705-10.
66. Abreu E, Koifman S. Fatores de prognósticos do câncer de mama feminino. *Rev Bras Cancerol*. 2002;48(1):113-31.
67. Kuijt GP, Voogd AC, Van Fransi LU, Roumen RM, Sheijma NS. The prognostic significance of axillary lymph-node micrometastase in breast cancer patients. *Eur J Surg*. 2005;31(3)500-5.
68. de Boer M, van Dijck JAAM, Bult P, Borm GF, Tjan-Heijnen VCG. Breast cancer prognosis and occult lymph node metastases, isolated tumor cells, and micrometastases. *J Natl Cancer Inst*. 2010;102(6):410.
69. Weaver DL, Ashikaga T, Krag DN, Skelly JM, Anderson SJ, Harlow SP, et al. Effect of occult metastases on survival in node-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2011;364(2):412-21.
70. Giuliano AE, Dale PS, Turner RR, Morton DL, Evans SW, Krasne DL. Improved axillary staging of breast cancer with sentinel lymphadenectomy. *Ann Surg*. 1995;222(3):394-9.
71. Neri A, Marrelli D, Roviello F, De Stefano A, Guarnieri A, Pallucca E, et al. Prognostic value of extracapsular extension of axillary lymph node metastases in T1 to T3 breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2005;12(3):246-53.
72. Albain KS, Allred DC, Clark GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? *J Natl Cancer Inst Monogr*. 1994;169(1):35-42.
73. Alvarenga M. Tumores da Mama. In: Billis AVJ, editor. *Patologia diagnóstica de tumores*. Campinas: Impressão Digital do Brasil Gráfica e Editora Ltda; 2004. p.205-98.



74. Guerra MR, Mendonça GAS, Bustamante-Teixeira MT, Cintra JRD, Carvalho LM, Magalhães LMPV. Sobrevida de 5 anos e fatores de prognósticos em coorte de pacientes com câncer de mama assistidas em Juiz de Fora. Minas Gerais, Brasil. Cad Saúde Pública. 2009;25(11):2455-66.
75. Arpino G, Bardou VJ, Clark GM, Elledge RM. Infiltrating lobular carcinoma of the breast: tumor characteristics and clinical outcome. Breast. 2004;6(3):149-56.
76. du Toit RS, Locker AP, Ellis IO, Elston CW, Nicholson RI, Robertson JF, et al. An evolution of differences in prognosis recurrence patterns and receptor status between invasive lobular and other cancer. Eur J Surg Oncol. 1991;17(1):251-7.
77. Diab SG, Clark GM, Osborne CK, Libby A, Allred DC, Elledge RM. Tumor characteristics and clinical outcome of tubular and mucinous breast carcinomas. J Clin Oncol. 1999;17(5):1442-8.
78. Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF, Gelman R, Connolly JL, Schnitt S, et al. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. J Clin Oncol. 1994;12(5):888-94.
79. Banerjee M, George J, Song EY, Roy A, Hryniuk W. Tree-based model for breast cancer prognostication. J Clin Oncol, v.22, p.2567-75, 2004.
80. van der Hage JA, Putter H, Bonnema J, Bartelink H, Therasse P, van de Velde CJH. et al. Impact of locoregional treatment on the early-stage breast cancer patients: a retrospective analysis. Eur J Cancer. 2003;39(15):2192-9.
81. Crowe JP, Gordon NH, Shenk RR, Zollinger RM, Blumberg DJ. Age does not predict breast cancer outcome. Arch Surg. 1994;129(5):483-7.
82. Rodrigues N, Carter D, Dillion D, Parisot N, Choi DH. Correlation of clinical and pathologic features of intraductal breast carcinoma between younger and older women. Cancer. 2003;1587(6):1393-8.
83. Gnerlich JL, Deshpande AD, Jeffe DB, Sweet A, White N, Margenthaler JA. Elevated breast cancer mortality in women younger than age 40 years compared with older women is attributed to poorer survival in early-stage disease. J Am Coll Surg. 2009;208(3):341-7.
84. van der Hage JA, Mieog JS, van de Velde CJ, Putter H, Bartelink H, van de Vijver MJ. et al. Impact of established prognostic factors and molecular subtype in very young breast



- cancer patients: pooled analysis of four EORTC randomized controlled trials. *Breast Cancer Res.* 2011;13(3):R68.
85. Foo CS, Su D, Chong CK, Chng HC, Tay KH, Low SC, et al. Breast cancer in young Asian women: study on survival. *ANZ J Surg.* 2005;75(7):566-72
 86. Rakha EA, El-Sayed ME, Lee AH, Elston CW, Grainge MJ, Hodi Z, Blamey RW, et al. Prognostic significance of Nottingham histologic grade in invasive breast carcinoma. *J Clin Oncol.* 2008;26(9):3153-8.
 87. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. The value of histological grade in breast cancer :Experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology.* 1991;19(5):403-10.
 88. Allred DC, Harvey JN, Bernardo M, Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol.* 1998;11(2):155-68.
 89. Dawson P, Fergunson DJ, Karrinson T. The pathological findings of breast câncer in patients surviving 25 years after mastectomy. *Cancer.* 1982;50(1):2131-8.
 90. Le R, Tubiana HM, Friedman S, Hacene K, Spirates F, Brunet M. Prognostic value of histologic grade nuclear components of Scaff Bloon Richardson (SBR). An improved score modification based an a multivariade analysis of 1262 invasive ductal breast carcinoma. *Cancer.* 1989;64(9):1914-21.
 91. Barros ACS, Buzaid AC, NIMIR CCBA, editores. Fatores Prognósticos e Preditivos de Resposta. Câncer de mama: tratamento multidisciplinar. São Paulo: Dendrix Edição e Design; 2007.
 92. Hutter RN. The role of the pathologist in breast cancer management. *Cancer.* 1990; 66(5):1363-72.
 93. Mahammed RA, Martin SG, Giel MS, Green AR, Paish EC, Ellis IO. Improved methods of detection of lympho vascular invasion demonstrate that it is the predominant method of vascular invasion in breast cancer and has important clinical consequences. *Am J Surg Pathol.* 2007;31(12):1825-33.
 94. Mishra A, Verma M. Cancer biomarkers: are we ready for the prime time? *Cancers.* 2(1):190-208.
 95. Ventura AC, Merajner SD. Genetic determinants os aggressive breast cancer. *Ann Rev Med.* 2008;59:199-212.



96. Varmus H, Pao W, Politi K, Podsypanina K, Du YC. Oncogene come of age. Cold Spring Hard Symp Quant Biol. 2005;70:1-9.
97. Sawyers CL. Rational Therapeutic intervention in cancer kinases as drugs targets. Cur Opin Genet Dev. 2002;12(1):111-5.
98. William FA, Philip SR, Aleix P, Charles MP, Mark ES. How many etiological subtypes of breast cancer: two, three, four, or more? J Natl Cancer Inst. 2014;106(8): pii: dju165.
99. Dako HD, Dellórtó P, Falzon M, Hoff KD, Levy YY, McMahon L, et al. Immunohistochemical performance of estrogen and progesterone receptor antibodies on the DAKO Omnis staining Platform: Evaluation in multicenter studies. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2015;Dec 9.
100. Zang X, Deng H, Wang ZY. Estrogen activation of the mitogen active protein kinase in RE (+) breast cancer cells. J Steroid Biochem Mol. 2014;143(1):434-43.
101. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. J Clin Oncol. 1999;17(5):474-81.
102. Jordan VC. Tamoxifen: the Herald of a New Era of Preventive Therapeutics. J Nat Cancer Institute. 1997;89(11):747.
103. Clark GM, McGuire WL. Follow-up study of Her-2/neu amplification in primary breast cancer. Cancer Res. 1991;51(3):944-8.
104. Hirshaut Y, Pressman P, editors. Breast cancer: The Complete Guide. 5th ed. Nova York: Bontom; 1996.
105. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nature. 2000;406(6797):747-52.
106. Allemanic C, Sant M, Berrino F, Aareleid T, Charplan G, Caeburgh JW, et al. Prognostic value of morphology and hormone receptor status in breast –A population Based study. Br J Cancer. 2004 .Oct 4;91(7):1263-8.
107. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology / College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. J Clin Oncol. 2010;134(7):e48-72.
108. Yeh IT, Mies C. Application of immunohistochemistry of breast lesions. Arch Pathol Lab Med. 2008;132(3):349-581.



109. Stierer M, Rosen H, Weber R, Hanak H, Auerbach L, Heinz AJ, et al. A prospective analysis of immunohistochemically determined hormone receptors and nuclear features as predictors of early recurrence in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.*1995; 36(1):11-7.
110. Navarrete MA, Maier CM, Falgani R, Quadras LG, Lima GR, Baracat EC, et al. Assessment of proliferative apoptotic and cellular renovation índices of the human mammary epithelium during the follicular and luteal phases of the menstrual cycle. *Breast Cancer Res.* 2005;7(3):r 306-13.
111. Kuukasjarvi T, Komen J, Helin H, Holli K, Isola J. Loss of estrogen receptor in recurrent breast cancer is associated with poor response to endocrine therapy. *J Clin Oncol.* 1996;14(9):2584-9.
112. Kobayashi M, Oal A, Oda Y, Nakanish L. Protein overexpression and gene amplification of c-erbB-2 in breast carcinoma a comparative study of immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization of formalin-fixed, para ffin embedded tissues. *Hum Pathol.* 2002;33(1):21-8.
113. Lee M, Daniels MJ, Veukitaraman AR. Phospylation of BRCA 2 by the polo-like Kinase PIK-1 is regulated by DNA damage and mitotic progression. *Oncogene.* 2004; 23(4):865-72.
114. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the Her-2/neu oncogene. *Science.* 1987;235(4785):177-82.
115. Mittra I, Redkar AA, Badwe RA. Prognosis of breast cancer: evidence for interaction between c-erb-2 overexpression and number of involved axillary lymph nodes. *J Surg Oncol.* 1995; 60(1):106-11.
116. Perou CM, Jeffrey SS, van de Rijn M, Rees CA, Eisen MB, Ross DT, et al. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. *Proc. Natl Acad Sci.* 1999;96(16):9212-7.
117. Kakar S, Puangsuvan N, Stevens JM, Serenas R, Mangan G, Sahai S, Mihalov ML. Her-2/neu assessment in breast cancer by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization comparison of results and correlation with survival. *Mol Diagn.* 2000; 5(3):199-207.



118. Wolf AC, Hammond M, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast. *J Clin Oncol.* 2007;131(1):18-43.
119. Hayes DF, Thor AD. C-erbB-2 in breast cancer development of clinically useful marker. *Semin Oncol.* 2002;29(1):231.
120. Johnson-Thompson MC, Guthrie J. Ongoing research to identify environmental risk factors in breast carcinoma. *Cancer.* 2000;88(1):1224-9.
121. Hortobagyi GN, Khayat D. Targeting progress: The development of growth factor receptor-directed therapy. *Semin Oncology.* 2000;27(1):1-2.
122. Press MF, Bernstein L, Thomas PA, Meisner LF, Zhan JY, Ma Y, et al. Her-2/neu gene amplification characterized by fluorescence in situ hybridization: poor prognosis in node-negative breast carcinomas. *J Clin Oncol.* 1997;15(8):2894-904.
123. Colozza M, Azambuja E, Cardoso F, Sotiriou C, Larsimont D, Piccart MJ. Proliferative markers as prognostic and predictive tools in early breast cancer. Where are we now? *Ann Oncol* 2005;16(11):1723-39.
124. Boff RA, editor. *Mastologia Moderna: abordagem multidisciplinar.* Minas Gerais: Educus Editora; 2006. p.187-9.
125. Colecchi P, Baldini E, Giannessi P, Naccarato AG, Passoni A, Gardin G, et al. Primary chemotherapy in locally advanced breast cancer: effects on tumor proliferative activity, bcl-2 expression and the relationship between tumor regression and biological markers. *Eur J Cancer.* 1998;34(11):1701-4.
126. Wenger CR, Beardslee S, Owens MA, Pounds G, Oldaker T, Vendely P, et al. DNA ploidy, S-phase, and steroid receptors in more than 127,000 breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 1993;28(1):9-20.
127. Ignatiadis M, Sotiriou C. Understanding the molecular basis of histologic grade. *Pathobiology.* 2008;75(2):104-11.
128. Molino A, Micciolo R, Turazza M, Bonetti F, Piubello Q, Bonetti A, et al. Ki-67 immunostain in 322 primary breast cancer: association with clinical and pathological variables. *Int J Cancer.* 1997;74(1):433-7.



129. Hayashi S, Kitada M, Sata K, Matsudo Y, Ishibashi K, Oikawa K, et al. Histological grade as an alternative to the KI-67 labeling index is only available for luminal type breast cancer. *Breast Cancer*. 2014;21(1):47-51.
130. Harris L, Frisvold H, Mennel R, Norton L, Ravdin P, Taube S, et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25(33):5287-312.
131. Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ, et al. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann Oncol*. 2009;20(8):1319-29.
132. Ross JS, Gabriel N. *Molecular oncology of breast cancer*. Boston: Jones and Bartlett Publishers; 2005.
133. Luporsi E, André F, Spyridopoulos F, Martin PM, Jacquemier J, Penault-Llorca F, et al. Ki-67: level of evidence and methodological consideration for its role in the clinical management of breast cancer, analytical and critical review. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;132(3):895-915.
134. Azambuja E, Cardoso F, De Castro GJR, Colozza M, Mano MS, Durbecq V, et al. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer*. 2007;96(4):1504-7.
135. Olivier M, Langerød A, Carrieri P, Bergh J, Kjaer S, Eide J, et al. The clinical value of somatic TP53 gene mutations in 1,794 patients with breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2003;12(4):1157-67.
136. Cattione G, Rilke T, Andreola S. P53 expression in breast cancer. *Int J Cancer*. 1988;41(1):178-83.
137. Allred DC, Clark GM, Elledge R, Fuqua SA, Brown RW, Chamness GC, et al. Accumulation of mutant p53 in association with increased proliferation and poor clinical outcome in node negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1993; 85(3):200-26.
138. Chang J, Clark GM, Allred DC, Mohsin S, Chamness G, Elledge RM. Survival of patients with metastatic breast carcinoma. *Cancer*. 2003;1,97(3):545-53.
139. Tavassoli FA, editor. *Normal Development and anomalies of the breast. Pathology of the Breast*. Lyon: IARC Press; 2003. p45.2003.
140. Veronesi U, Rethinking TMA: breast cancer TNM classification for treatment decision-making and research. *Breast*. 2006;15(1):3-8.



141. Paredes J, Albergaria A, Carvalho S, Schmitt FC. Basal-like breast carcinomas: identification by P-cadherin, P63 and EGFR basal cytokeratins expression. *Appl Cancer Res.* 2006;26(2):41-55.
142. Turner NC, Reis-Filho JS, Russell AM, Springall RJ, Ryder K, Steele D, et al. BRCA1 dysfunction in sporadic basal-like breast cancer. *Oncogene.* 2007;26(14):2126-32.
143. Dunkler D, Michiels S, Schemper M. Gene expression profiling: does it add predictive accuracy to clinical characteristic in cancer prognosis? *Eur J Cancer.* 2007;43(4):745-51.
144. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, editors. *AJCC cancer staging manual* (7th ed). New York, NY: Springer; 2010.
145. Sotiriou C, Pusztai L. Gene-expression signature in breast cancer. *N Engl J Med.* 2009; 360(2):790-800.
146. Oakman C, Viale G, Di Leo A. Managemente triple negative breast cancer. *Breast.* 2010;19(1):312-21.
147. Gluz O, Liedtke C, Gottschalk N, Pusztai L, Nitz U, Harbeck N. Triple negative breast cancer. *Cancer. Current status and future direction.* *Ann Oncol.* 2009;20(12):1913-27.
148. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA.* 2006;295(21): 2492-2502.
149. Brow N, Tsodikov A, Baver KR, Paris CA. The role of human epidermal growth factor receptor 2 in the survival of women with estrogen and progesterone receptor negative, invasive breast cancer: The California cancer registry-1999-2004. *Cancer.* 2008;112(4):737-47.
150. Blanchard DK, Shetty PB, Hilsenbeck SC, Elledge RM. Association of surgery with improved survival in stage IV breast cancer patients. *Ann Surg.* 2008;247(5):732-8.
151. Cancellio G, Maisonneuve P, Rotmensz N, Viale G, Mastropasqua MG, Pruneri G, et al. Prognosis and adjuvant treatment effects in selected breast cancer subtypes of very young women (<35 years) with operable breast cancer. *Ann Oncol.* 2010; 21(10):1974-81.
152. Livasy C, Karoo G, Nanda R. Phenotype evolution of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol.* 2006;19(2):264-71.
153. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, et al. Triple negative breast cancer clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res.* 2007;13(15 Pt): 4429-34.



154. Wang SI, Li YX, Song YW, Wang WH, Jin J, Liu YP, et al. Triple-negative or Her-2 positive status predicts higher rates of locoregional recurrence in node-positive breast cancer patients after mastectomy. *Int J Radiat Oncol*. 2011;80(4):1095-101.
155. Liedtke C, Mazzouni C, Hess Kr, André F, Tordai A, Mejia JA, et al. Response to neoadjuvant therapy and lonterm survival in patients with triple negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 2008; 26(8):1275-81.
156. Burstein HJ. Patients with triple negative breast cancer: is there an optimal adjuvant treatment? *Breast*. 2013;22(2):147-8..
157. Elsamany S, Abdullah S. Triple negative breast cancer: future prospects in diagnosis and management. *Med Oncol*. 2014;31(2):834.
158. Minn AJ, Gupta GP, Siegel PM, Bos PD, Shu W, Giri DD, et al. Genes that mediate breast cancer metastasis. *Nature* 2005;436(7050):528-9.
159. Dent R, Hanna WM, Trudeau M, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Pattern of metastatic spread in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer. Res Treat* 2009;115(2):423-8.
160. Payne JJ, Bowen R, Jones J, Wells CA. Predictive markers in breast cancer: the present. *Histopathology*. 2008;52(1)82-90.
161. Faratian D, Barthett J. Predictive markers in breast cancer: The future. *Histopathology*. 2008;52(1):91-8.
162. Moriya T, Kozuka Y, Kanomata N, Tse GM, Tan PH. The role of immunohistochemistry in the diferencial diagnosis of breast lesions. *Pathology*. 2009;41(1):68-76.
163. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci*. 2001;98(19):10869-74.
164. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative. *N England J Med*. 2010;363(1):1938-48.
165. Reis-Filho JS, Tutt AN. Triple negative tumors: a critical review. *Histopathology*. 2008;52(1):108-18.
166. Bertucci F, Finetti P, Cerviera N. Basal are triple-negative breast cancers? *Int J Cancer*. 2008;123(1):236-40.
167. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, et al. Identification of human triple-negative cancers subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest*. 2011;121(7):2750-67.



168. Collins FS, Morgan M, Patrinos A. The human genome project :lessons from large-scale biology. *Science*. 2003;300(5617):286-90.
169. Hughes JE. Genomic technologies in drug discovery and development. *Drug Discovery Today*. 1999;4(1):6.
170. Henry LR, Stojadinovic A, Swain SM, Prindiville S, Cordes R, Soballe PW. The influence of a gene expression profile on breast cancer decisions. *J Surg Oncol*. 2009;99(6):319-23.
171. Ramaswamy S, Perou CM. DNA microarrays in breast cancer: the promise of personalized medicine. *Lancet*. 2003;361(9369):1576-77.
172. ASCO. American Society of Clinical Oncology policy statement update: genetic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol*. 2003;21(12):2397-2406.
173. Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, Huard C, Gaasenbeek M, Mesirov JP, et al. Molecular classification of cancer class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science*. 1999;286(5439):531-7.
174. Simon R, Radmacher MD, Dobbin K. Design os studies using DNA microrrays. *Genet Epidemiol*. 2002;23(1):21-36.
175. Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2004;351(27):2817-26.
176. Ma XJ, Salunga R, Tuggle JT, Gaudet J, Enright E, McQuary P, et al. Gene expression profiles of human breast cancer progression. *Proc Nat Acad Sci USA*. 2003;100(10):5974-9.
177. Parker JS, Mullins M, Cheang MC, Leung S, Voduc D, Vickery T, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrisec subtypes. *J Clin Oncol*. 2009;27(8):1160-7.
178. Dubsy P, Filipits M, Jakesz R, Rudas M, Singer CF, Greil R, et al. Endopredict improves the prognostic classification derived from common clinical guidelines in ER-positive, HER-2 negative early breast cancer. *Ann Oncol* 2013;24(3):640-647.
179. Pascalicchio J, Fristachi C, Baracat F. Câncer da mama: fatores de risco, prognósticos e preditivos. *Rev Bras Mastol*. 2001;11(1):71-84.
180. Colleoni M, Rotmensz N, Peruzzotti G, Maisonneuve P, Orlando L, Ghisini R, et al. Role of endocrine responsiveness and adjuvant therapy in very young women (bellow 35 year)with operable breast cancer and negative disease.*Ann Oncol*. 2006;17(2):1497-503.



181. Sales RA, McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors in breast cancer. *Semin Surg Oncol.* 1989;5(1): 102-10.
182. Carey A. Directed therapy of subtypes of triple-negative breast cancer. *Oncologist.* 2010;Suppl 5:49-56.
183. Kroman N, Melbye M, Mouridsen H. Prognostic influence of age at diagnosis in premenopausal breast cancer patients. *Scand J Surg* 2002; 91(1):305-8.
184. Colonna M, Delafosse P, Uhry Z, Poncet F, Arveux P, Molinie F, et al. Is breast cancer incidence increasing among young women? An analysis of trend in France for the period 1983-2002. *Breast.* 2008;17(3):213-16.
185. Sidoni A, Cavaliere A, Bellezza G, Scheibel M, Bucciarelli E. Breast cancer in young women: clinic-pathological features and biological specificity. *Breast.* 2003;12(4):247-50.
186. Farzadnia M, Meibodi NT, Shandiz Fh, Mahmoudi M, Bahar M, Memar B, et al. Evaluation of her-2/neu oncoprotein in serum and tissue samples of women with breast cancer: correlation with clinicopathological parameters. *Breast.* 2010;19(6):489-96.
187. Newman LA, Mason J, Cote D, Vin Y, Carolin K, Bouwman D, Colditz GA. African, American ethnicity, socioeconomic status and breast cancer survival. *Cancer survival.* *Cancer.* 2002; 94(11): 2844-54
188. Elledge RM, Clark Gm, Chamness GC, Osborne CK. Tumor biologic factors and breast cancer prognosis among white, Hispanic and black women in the United States. *J Natl Cancer Inst.* 1994;86(9):705-12.
189. Lund MJ, Trivers KF, Porter PL, Coates RJ, Leyland-Jones B, Brawley OW, et al. Race and triple negative threats to breast cancer survival a population based study in Atlanta, GA. *Breast Cancer Res Treat.* 2009;113(2):357-70.
190. Carvalho FM, Bacchi LM, Pincerato KM, van de Rijn M, Bacchi CE. Geographic difference in the distribution of molecular subtypes of breast cancer in Brazil. *BMC Womens Health.* 2014;14(1):102-7.
191. Simpson JF, Page DL. Prognostic value of histopathology in the breast. *Semin. Oncol.* 1992;19(3):254.-62
192. Tot T. The diffuse type of lobular carcinoma of invasive the breast: morphology and prognosis. *Virchows Arch.* 2003;443(6):718-24.



193. Uemura G, Luca L, Rodrigues J, Vespoli H, Carvalho L, Traidman. Um estudo da expressão de marcadores imunohistoquímico e fatores anatomoclinicos de câncer de mama em pacientes axila negativas. *Rev Bras Mast.* 2003;3(3):127-32.
194. Fischer B, Dignam J, Tan-Chiu E, Anderson S, Fischer E, Wittliff J, et al. Cancer of the breast: size neoplasm and prognosis. *Cancer* 2001;93(2):112-20.
195. Bacha OM, Zettler CG, Gonzales F, Grossmann S. Associação do c-erb-2 com linfonodos axilares e outros fatores prognósticos no câncer de mama. *Rev Bras Oncol.* 2004;(3):31-4.
196. Mattes MD, Bhatia JK, Metzger D, Ashamalia H, Katsoulakis E. Breast cancer subtype as a predictor of lymph node metastasis according to the SEER registry. *J Breast Cancer.* 2015;18(2):143-8.
197. Yuan P, Xu BH, Zhang C, Qi J. Serum her-2/neu level and related factors in patients with breast cancer. *Cancer.* 1991;51(1):944-8.
198. Imoto S, Kito T, Hasebe T. Serum c-erb-2 levels in monitoring of operable breast cancer patients. *Japan J Clin Oncol.* 2007;29(7):336-9.
199. Richi MS, Junqueira PAA. Marcadores moleculares em câncer de mama preditivos de metástases axilares. *Rev Assoc Med Bras.* 2008;54(3):189-201.
200. Viale G, Maiorano E, Pruner G, Mastropasqua MG, Valentini S, Galimberti V, et al. Predicting the risk for additional axillary metastases in patients with breast carcinoma and positive sentinel lymph node biopsy. *Ann Surg* 2005;241(2):319-25.
201. Giuliano AE. Intradermal blue dye to identify sentinel lymph node in breast cancer. *Lancet.* 1997;350(9082):958.
202. Oktay M, Oktay NA, Besir FH, Buyukkaya R, Erdem H, Onal B, Ozaydin I, Yazici B. Relation between radiographic BI-RADS scores and triple negativity in patients with ductal carcinomas. *Int J Clin Exp Med.* 2014;7(8):2334-8.
203. Vallejos CS, Gomez HC, Cruz WR, Pinto JA, Dyer RR, Velarde R, et al. Breast cancer classification according to immunohistochemistry markers: subtypes and association with clinicopathologic variables in a Peruvian Hospital database. *Clin Breast Cancer.* 2010;10(4): 294-300.
204. National Cancer Institute. National Cancer Statistic Review: 1973-1989. Bethesda: NIH Pub; 1992.



205. Valagussa P, Bonadonna G, Veronesi U. Patterns of relapse and survival following radical mastectomy. Analysis of 716 consecutive patients. *Cancer*. 1978;41(3):1170-8.
206. Koo S, Jung W, Jeong J. Metastatic breast cancer shows different immunohistochemical phenotype according to metastatic site. *Tumori*. 2010;96(3):424-37.
207. Foerster R, Bruckner T, Bostel T, Schlamp I, Debus J, Rief H. Prognostic factors for survival of women with unstable metastases from breast cancer. *Radial Oncol*. 2015;15(10):144.
208. Bollen L, Wibmer C, Wang M, van der Linden YM, Leithner A, Bunker CE, et al. Molecular phenotype is associated with survival in breast cancer patients with spinal bone metastases. *Clin Exp Metastasis*. 2015;32(1):1-5.
209. Kim MY, Oskarsson T, Acharyya S, Nguyen DX, Zang XH, Norton L, et al. Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell*. 2009;139(1):1315-26.
210. Anderson WF, Chatterjee N, Ershler WB, Brawley OW. Estrogen receptor breast cancer phenotypes in the Surveillance, epidemiology, and end results database. *Breast Cancer Res Treat* 2002;76(1):27-36.
211. Bacchi LM, Corpa M, Bacchi CE, Carvalho FM. Caracterização anatopatológica e imunofenotípica de carcinoma de mama em mulheres jovens. *Rev Bras Mast*. 2009;19(1):42-6.
212. Dowsett M, Cooke T, Ellis I, Gullick WJ, Gusterson B, Mallon E, Walker R. Assessment of Her-2 status in breast cancer: why, when and how? *Eur J Cancer*. 2000; 36(2):170-6.
213. Kanapathy Pillay SK, Tay A, Nair S, Leong CO. Triple negative breast cancer is associated with EGFR, CK5/6 and c-KIT expression in Malaysian women. *BMC Clin Pathol*. 2012; 26(1):18.
214. von Minckwitz G, Kümmel S, Vogel P, Hanusch C, Eidtmann H, Hilfrich J, et al. Intensified neoadjuvant chemotherapy in early-responding breast cancer: phase III randomized GeparTrio study. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100(8):552-62.
215. von Minckwitz G, Kümmel S, Vogel P, Kaufmann M. Neoadjuvant vinorelbine-capecitabine versus docetaxel-doxorubicin-cyclophosphamide in early nonresponsive breast cancer: phase III randomized GeparTrio trial. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100(8):542-551.
216. von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant



- chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol.* 2012;30(15):1796-804.
217. von Minckwitz G, Schneeweiss A, Loibl S, Salat C, Denkert C, Rezai M, et al. Neoadjuvant carboplatin in patients with triple-negative and HER2-positive early breast cancer (GeparSixto; GBG 66): a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2014;15(7):747-56.



Apêndices

APÊNDICE A – Fichas clínicas

FICHA DE COLETA DOS DADOS DE PACIENTES DO HBL

1. NOME -----

2. Nº DO AP(HBL)----- NªIMUNOPAT-----

3. REGISTRO -----

4. IDADE: 20 A 30 ----- 31 A 40----- 41 A 50 -----
 51 A 60----- 61 A 70----- ACIMA 70-----

5. RAÇA:

I () BRANCO

II () NEGRO

6. TIPO HISTOLÓGICO

DUCTAL () LOBULAR () OUTROS().....

7. ESTADIAMENTO PATOLÓGICO

E 0 () EII ()

E I () EIII ()

8. LINFONODOS

AUSÊNCIA DE METÁSTASE () MACROMETÁSTASE ()

PRESENÇA DE 1 A 3 LINFONODOS () MICROMETÁSTASE ()

PRESENÇA DE 4 A 9 LINFONODOS ()

ACIMA DE 10 LINFONODOS ()

9. GRAU HISTOLÓGICO :

GRAU : I () II () III ()

10. IMUNOISTOQUIMICA: Triplos negativos

CK5/6 () positiva () negativa KI-67 () >14 () <14

EGFR () positiva () negativa

11. MAMOGRAFIA ()

ULTRASONOGRAFIA ()

Descrição da imagem:-----

Birads : 0 () II () IV ()

I () III () V ()



12.TIPO DE PROCEDIMENTO CIRÚRGICO:

MASTECTOMIA () QUADRENTECTOMIA ()

ONCOPLASTIA () MASTECT.+RECONST ()

LINFONODO SENTINELA SIM () NÃO ()

13.RECORRÊNCIA (METÁSTASE)

PRESENTE()...... AUSENTE ()



APÊNDICE B - ARTIGO ORIGINAL

Carcinoma invasivo de mama triplo negativo com imunofenótipo *basal-like* e não-basal: implicações prognósticas

Invasive breast cancer triple negative of type basal-like and no basal with :implication prognosis

Darley de Lima Ferreira Filho¹, Nancy Cristina Ferraz de Lucena Ferreira²,
Maria do Carmo Abreu e Lima³Alvaro Antonio Bandeira Ferraz⁴ ,

¹Chefe do Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena-Recife-PE

²Supervisora da Residência Médica de Mastologia do Hospital Barão de Lucena-Recife-PE

³Professora Associada do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Pernambuco

⁴ Professor e Doutor do Departamento de Cirurgia Geral da UFPE

Descritores:

Câncer de mama, Fatores prognósticos, Receptores hormonais e HER-2 negativo

Keywords:

Breast cancer, Factors prognosis, receptor hormonal e HER-2

Correspondência:

Darley de Lima Ferreira Filho

Av. Rosa e Silva, 707/2502, Aflitos - Cep: 52020-220

E-mail: darleyferreira@oi.com.br



ANEXO A

CENTRO INTEGRADO DE
SAÚDE AMAURY DE
MEDEIROS - CISAM/UPE.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CARCINOMA INVASIVO DA MAMA TRIPLO NEGATIVO DO TIPO BASAL-LIKE E NÃO BASAL: IMPLICAÇÕES PROGNÓSTICAS

Pesquisador: Darley de Lima Ferreira Filho

Área Temática: Área 9. A critério do CEP.

Versão: 2

CAAE: 05038212.7.0000.5191

Instituição Proponente: FUNDACAO DE SAUDE AMAURY DE MEDEIROS ((FUSAM HOSPITAL BARAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 164.037

Data da Relatoria: 23/10/2012

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo prospectivo (iniciando em 2012 até 2014) tipo coorte a ser realizado no Hospital Barão de Lucena.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar os exames histopatológicos das pacientes com carcinoma invasivo da mama triplo negativo do tipo basal

e não basal em relação ao tipo e grau histológico, invasão vascular, etc.; caracterizar o imunofenótipo basal em não basal dos casos triplo negativos; correlacionar os casos triplo negativos, basais e não basais, com o estadiamento patológico e evolução clínica durante o primeiro ano após cirurgia.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos. Não é um estudo de intervenção, mas sim observacional com avaliação dos resultados nos prontuários.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Tema importante, no entanto o protocolo precisa de vários ajustes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos foram atendidos

CENTRO INTEGRADO DE
SAÚDE AMAURY DE
MEDEIROS - CISAM/UPE.



Recomendações:

Nenhuma

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Em relação a não necessidade de TCLE, concordo que não há necessidade, sendo substituído pelo termo confidencialidade.

Em relação as outras pendências, todas foram atendidas: carta de anuência da Diretoria do Hospital Barão de Lucena, informação de quem irá patrocinar o estudo, cronograma, curriculum do autor e instrumento de coleta de dados.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado

RECIFE, 06 de Dezembro de 2012

Assinador por:
CLAUDIO HELIOMAR VICENTE DA SILVA
(Coordenador)



ANEXO B

ARTIGO SISTEMÁTICO

Avaliação do impacto do status dos receptores hormonais e da proteína Her-2 no prognóstico do câncer de mama

Impact assessing of immunohistochemical hormone receptor status and Her-2 in breast cancer prognosis

Darley de Lima Ferreira Filho¹, Nancy Cristina Ferraz de Lucena Ferreira², Guacyra Magalhães Pires³, Maria Juliana Galvão Nunes⁴, Maria do Carmo Abreu e Lima⁵

Descritores

Neoplasias de mama
Imunohistoquímica
Prognóstico

Keywords

Breast neoplasms
Immunohistochemistry
Prognosis

RESUMO

O câncer de mama é o principal tipo de câncer que atinge as mulheres. São mais de um milhão acometidas, com estimativa de 410 mil mortes por conta da doença em um período de um ano. O objetivo do presente estudo é estabelecer, por meio da revisão da literatura, o papel da imunoeexpressão dos receptores hormonais e da proteína do Her-2 no prognóstico e na resposta terapêutica do câncer de mama. Foi realizada uma revisão sistemática, com busca de artigos nas bases Pubmed, National Library of Medicine, Scientific Electronic Library Online (SciELO), Science Based Medicine e Medline Health Information from National Library of Medicine. Foram excluídos os artigos de revisão e estudos experimentais com animais. Encontraram-se 1.300 artigos no Pubmed, 711 no Medline, 415 no Science Medic e 139 no SciELO, totalizando 2.255 documentos. Destes, selecionaram-se 18 trabalhos para a revisão. Conclui-se que o estudo imunohistoquímico tem grande importância na avaliação prognóstica e preditiva do câncer de mama, porém os estudos ainda são muito controversos. Existe necessidade de acompanhamento maior das pacientes e de correlacionar esses dados com fatores clínico-patológicos.

ABSTRACT

Breast cancer is a major cause of cancer related death in women, with more than one million new cases and as often as 410 thousands deaths in one year. The object of this study is confirm if there is a correlation of immune-histochemistry (hormonal receptors and Her-2) and prognostic of breast cancer. We carried out a systematic review on Pubmed, SciELO, Science Medic and Medline and excluded the review with animals or research that didn't evaluate the effects of immune-histochemistry in prognostic breast cancer. We discovered 1.300 systematic reviews in Pubmed, 711 in Medline, 415 Science Medic and 139 SciELO with 2.255 articles. Among 2.255, we selected 18. We may conclude there is a great importance in a correlation of the immunohistochemistry and the prognostic breast cancer, but the articles are very controversial. We need to have a follow-up with these patients for a long time and better evaluation with clinic-pathologic factors.

Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena – Recife (PE), Brasil.

¹ Chefe do Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena – Recife (PE), Brasil.

² Médica-assistente do Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena – Recife (PE), Brasil.

³ Oncologista Clínica. Mestranda em Patologia pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife (PE), Brasil.

⁴ Mestranda em Patologia pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife (PE), Brasil.

⁵ Professora Associada do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife (PE), Brasil.

Correspondência: Darley de Lima Ferreira Filho – Edifício Costa Azevedo – Avenida Rosa e Silva, 707/2502 – Aflito – CEP 520-20-220 Recife (PE), Brasil. E-mail: darleyferraz@bol.com.br

Recebido em: 22/04/2011. Aceito com modificações em: 22/07/2011

Introdução

O câncer de mama é a neoplasia mais comum entre as mulheres e sua incidência e mortalidade vêm aumentando^{1,2}. Nos últimos anos, pesquisas possibilitaram avanços no diagnóstico e tratamento, porém o problema ainda é devastador^{4,5}. Estudos epidemiológicos estimam a ocorrência de 1 milhão de casos de câncer de mama e que cerca de 9% das mulheres desenvolverão a doença durante suas vidas. A maior parte dos casos ocorre em países desenvolvidos, tendo a Holanda a maior incidência (90,2/100.000), seguida pelos Estados Unidos, com coeficiente de até 86,9/100.000⁶.

Devido à heterogeneidade dos tipos histológicos tumorais e do seu perfil imunohistoquímico e genético, existe dificuldade para estabelecer relação entre os achados clínicos e os dados considerados de valor prognóstico no grau de recorrência após o tratamento adjuvante⁷⁻⁹.

Estudos têm claramente demonstrado o valor prognóstico e/ou preditivo do exame histopatológico e imuno-histoquímico no manejo clínico terapêutico do câncer de mama. São considerados particularmente importantes na definição do prognóstico os parâmetros histopatológicos representados pelo diâmetro tumoral, tipo e grau histológico, invasão vascular e status axilar, e como fatores prognósticos/preditivos o status dos receptores hormonais e da proteína Her-2 por imunohistoquímica¹⁰. Os casos de Her-2 indeterminado(2+) pelo exame imunohistoquímico devem ser avaliados pela hibridização *in situ* (FISH; CISH)¹¹. No entanto, nas regiões Norte-Nordeste não há estudos institucionais correlacionando essas características com o estadiamento e a evolução clínica, inclusive muitos pacientes não têm, sequer, acesso ao exame imuno-histoquímico pelo SUS.

O objetivo desta revisão sistemática é estabelecer as implicações prognósticas/preditivas dos fatores imuno-histoquímicos (RE - receptor de estrogênio, RP - receptor de progesterona e Her-2 - fator de crescimento epitelial humano) no câncer de mama e verificar se há diferença na evolução clínica dos casos triplo-negativos (negativo para RE, RP e Her-2) quanto ao imunofenótipo basal-like e não basal.

Metodologia

Realizou-se revisão bibliográfica nas bases de dados Pubmed, National Library of Medicine, Scielo (Scientific Electronic Library Online), Sciencedirect (Science Based Medicine) e Medline Health Information from National Library of Medicine, empregando-se a palavra-chave primária "câncer de mama", seguida das palavras-chave secundárias "imuno-histoquímica", "receptor hormonal-estrogênio e progesterona", "Her-2" e "prognóstico", e seus termos correspondentes em inglês, "breast cancer", "immuno-histochemistry", "RE, RP, Her-2" e "prognostic".

Foram verificados 2.255 trabalhos que abordaram os fatores prognósticos/preditivos determinados pelo exame imuno-histoquímico e selecionados 18 artigos, que integram esta revisão (Figura 1).

A importância clínica do exame imuno-histoquímico foi reconhecida e incorporada pelo sistema público de saúde e por convênios médicos brasileiros a partir da década de 1990.

Nesta revisão, incluímos apenas os artigos originais e excluímos os de revisão. O levantamento bibliográfico compreendeu período de 20 anos (1990 a 2010) (Figura 1).

Revisão sistemática

Para apresentação dos resultados, optou-se por considerar as seguintes variáveis nos artigos selecionados: autor, ano, país de realização da pesquisa, tamanho da amostra, método utilizado e conclusão.

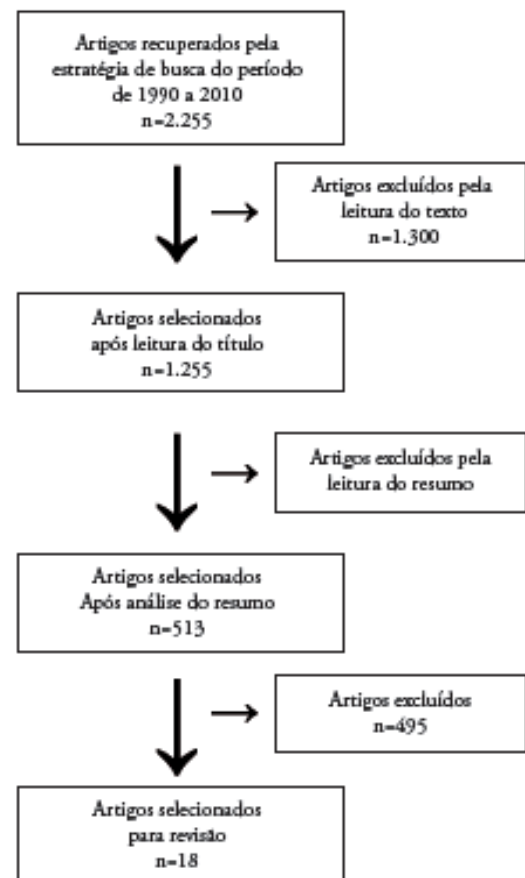


Figura 1. Fluxograma

Discussão

A heterogeneidade dos artigos não permitiu a aplicação de tratamento estatístico (metanálise). Dentre as diferenças entre os estudos, ressalta-se o número de pacientes utilizados nos 18 artigos selecionados (Tabela 1). Foram identificados trabalhos com 54 pacientes¹² a outros com número

maior, até 2.970. Os estudos foram realizados com a utilização de questionário ou por meio de levantamento de prontuários^{13,14}.

A incidência do câncer de mama vem aumentando^{15,16} e os tumores apresentam heterogeneidade tanto nas suas características clinicopatológicas quanto naquelas determinadas pelo exame imunohistoquímico^{17,18}.

Tabela 1. Revisão Sistemática

Autor	Ano	País	Amostra	Método	Conclusão
Crowe et al. ¹¹	1991	EUA	1392	Determinar se RE/RP interferem na sobrevida	O RH interfere no prognóstico. Pacientes com RE+ têm sobrevida maior
Hartman et al. ¹⁹	1994	EUA	354	Avaliação do Her-2 em axila positiva	Análise multivariada determina que o Her não é fator prognóstico isolado
Souern & Carvalho ²⁶	2002	Brasil	55	Relação entre a imuno, estágio do câncer de mama e linfonodos	Existe certa relação do Her-2 com fatores de prognóstico sombrios
Costa et al. ³⁹	2002	Alemanha	670	Avaliação dos receptores no câncer de mama	Idade, linfonodo e receptores são importantes na evolução do CA de mama
Uemura et al. ¹²	2003	Brasil	54	Estudo da expressão de marcadores imunohistoquímicos e fatores anatomo-clínico no CA de mama	Os parâmetros anatomoclínicos têm mais importância prognóstica
Bacha et al. ³⁴	2004	Brasil	115	Associação do c-erb com linfonodos e outros fatores prognósticos com CA de mama	O c-erb amplificado tem relação significativa com tamanho. Tumor o comprometimento axilar
Kim et al. ⁴¹	2006	Coreia do Sul	776	Características clínico-patológicas do basal like comparado com outros subtipos	O Her-2 tem importância no prognóstico, fazendo relação com o tamanho do tumor e comprometimento axilar
Ricci et al. ²³	2008	Brasil	123	Fatores morfológicos e moleculares e metástases	Não existe relação entre fatores morfo lógicos ou moleculares com metástase
Gluz et al. ³⁸	2009	EUA	1118	Estudo e prognóstico do câncer de mama triplo-negativo	Existe impacto do triplo-negativo no prognóstico
Van Belle et al. ¹³	2010	Bélgica	1927	Estudo comparando o Índice de Prognóstico de Nottingham (NPI) com e sem RE, RP e Her-2	A adição de RE, RP e Her-2 aumenta a acurácia do prognóstico
Wang et al. ³⁶	2010	China	835	Valor do prognóstico dos RH e Her-2	O triplo-negativo e Her+ interferem na recidiva local e sobrevida nas pacientes com axila +
Lialiaris et al. ²⁰	2010	Grécia	102	Avaliação do prognóstico e fatores preditivos no câncer de mama	A combinação desses fatores pode ser útil para prognóstico
Vallejos et al. ³⁶	2010	Peru	1198	Avaliação da diferença clinicopatológica e sobrevida em subtipos moleculares	O estudo demonstrou significado dos subtipos moleculares
Farzadnia et al. ²⁶	2010	EUA	75	Investigação do tipo de tumor, linfonodos, estágios e imunohistoquímica	A imuno pode ser considerada o método valioso
Cancello et al. ¹⁴	2010	Inglaterra	2970	Avaliação da imuno (subtipo luminal e Her-2) em pacientes jovens e CA	Jovens pacientes com triplo-negativo têm pior prognóstico
Pugliese et al. ²²	2010	EUA	484	Impacto da imuno e metástase do câncer de mama	Prognóstico pior da positividade do linfonodo sentinela eRH/Her-2+
Idirisinghe et al. ⁴⁰	2010	Singapura	117	Comparação da imuno com metástase à distância e recorrência local	A imuno é importante no tratamento e prognóstico
Reis-Filho et al. ⁹	2010	Inglaterra		Classificação molecular e do prognóstico	Análise entre erb-2, RE e axila+ confirma a agressividade



Aproximadamente 25% dos carcinomas têm Her-2 superexpresso e estes casos estão associados à pior doença livre e sobrevida global. Alguns estudos evidenciaram que o status do proto-oncogene Her-2, associado à axila positiva, tem valor prognóstico significativo. Hartmann et al.¹⁹, em uma análise multivariada de 354 pacientes, não encontraram evidência que o status Her-2 em axila positiva fosse um fator de prognóstico independente, porém relataram significativa correlação do grau nuclear elevado com a expressão do Her-2 e ausência de positividade do receptor de estrógeno.

É conhecida a correlação da condição dos receptores hormonais negativos com baixa diferenciação tumoral, alta taxa de proliferação celular e sobrevida menor. Lialaris et al.²⁰, em uma série de 102 pacientes com carcinoma primário mamário, investigaram marcadores imunohistoquímicos RE, RP e Her-2 e a combinação de outros fatores, como o tamanho tumoral, o tipo e o grau histológico, sobre como relacionam-se positivamente com a ocorrência de metástase. No entanto, a expressão dos RE e RP positiva mostrou relação inversa, ou seja, tumores que expressam receptores hormonais têm menor tendência à metástase, sendo útil no prognóstico e em informações terapêuticas. A combinação desses biomarcadores pode ser importante para o prognóstico e informações terapêuticas. Constantinidou et al.²¹ observaram que os tumores positivos para RE estavam mais associados ao carcinoma ductal e os positivos para RP, ao carcinoma lobular. Nesse estudo, o autor detectou correlação dos triplo-negativos com pior prognóstico.

O trabalho realizado no Memorial Sloan Kettering Cancer Center por Pugliese et al.²² comparou dois grupos em análise retrospectiva no período de 1996 a 2004. Em um grupo de 232 pacientes foi estudada a imuno-histoquímica (RE, RP e Her-2) em linfonodo sentinela positivo e no outro, 252 pessoas com o estudo da imuno-histoquímica em linfonodo sentinela negativo. As pacientes tinham grandes tumores, além de histologia lobular, alto grau (tumores pouco diferenciados) e Her-2 positivo. Eles receberam terapia sistêmica e tiveram média de seguimento de cinco anos. Não houve diferença na sobrevida livre ou global. Em 123 pacientes, com o estudo da imuno-histoquímica em linfonodo sentinela tratado com dissecação axilar, 16% tiveram axila positiva. Porém, os pacientes com imuno-histoquímica (RH e Her-2 negativo) e linfonodo positivo tinham pior prognóstico e alta taxa de terapia sistêmica, embora não tenham sido observadas diferenças nos resultados.

Em um estudo realizado na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) com 123 casos de câncer de mama invasivo, subdivididos em três grupos de acordo com o status axilar (micro, macrometástase e linfonodo-negativas) e associados com fatores morfológicos e moleculares, não foi identificada relação estatística significativa dos fatores morfológicos, tais como tamanho do tumor, tipo e grau histológico, como também os receptores hormonais, Her-2, Ki67 (anticorpo) e

p53 (oncoproteína supressora), e a ocorrência de metástases axilares. A ocorrência de metástases axilares esteve positivamente relacionada à embolização neoplásica em vasos linfáticos em lâminas coradas pela hematoxilina e eosina (HE) quando analisamos os casos com metástases e sem metástases (valor $p=0,040$) e quando analisados em três subgrupos (valor $p=0,002$). Foi observada relação positiva e estatisticamente significativa entre a presença de metástases axilares e invasão de vasos sanguíneos em lâminas coradas pelo CD31 (*cluster of differentiation* - valor $p=0,020$). Como conclusão, a invasão neoplásica em vasos linfáticos e sanguíneos identificada em cortes histológicos corados pela HE e por marcadores imunohistoquímicos relacionam-se positivamente com a ocorrência de metástase²³. Outros autores não demonstraram relação desses fatores e metástase. Porém, é conhecido que tumores que expressam receptores hormonais têm menor tendência à metástase e tumores com receptores hormonais negativos com baixa diferenciação tumoral e alta proliferação celular têm prognóstico desfavorável²⁴. No artigo de Viale et al.²⁵, em uma série de 4.351 pacientes com câncer de mama, e avaliação do linfonodo sentinela, identificou-se que o tamanho do tumor e a invasão peritumoral dos vasos eram os mais poderosos e independentes fatores preditivos de metástases em linfonodos sentinela.

A literatura é sempre controversa quanto à importância prognóstica dos receptores hormonais em axila negativa. Estudos recentes comprovam que fatores anatômicos preponderam sobre os marcadores biológicos no prognóstico do câncer mamário sem comprometimento axilar. Na axila positiva, o Her-2 tem maior valor prognóstico¹².

No trabalho de Farzadnia et al.²⁶, foi estudada a oncoproteína Her-2/neu e sua correlação com parâmetros clínico-patológicos. O Her positivo tem um importante papel no câncer de mama. O her-2 foi estudado por meio do exame imunohistoquímico e do sangue periférico (método de ELISA). Não foi evidenciada correlação entre a idade, o estágio, o grau e metástase linfonodal, com os níveis do Her-2. Outros autores, como Molina et al.²⁷ e Slamon et al.¹⁸ encontraram essa relação. Porém, não podemos afirmar que os marcadores possam atingir patamares confiáveis na clínica. Não existem regras que definam quais dos marcadores biológicos poderão ser diretamente relacionados ao prognóstico. Neste trabalho foi observado que as pacientes que tinham metástase apresentavam o Her-2 positivo (superexpresso) em 64%. Já autores como Rilke et al.²⁸ e Gullick et al.²⁹ não encontraram ligação entre o grau tumoral e o status do Her-2. No levantamento realizado por Choi et al.³⁰ e Imoto et al.³¹, os autores reportaram 95% de correlação do Her-2+ com idade e estadiamento. No quesito metástase axilar, não foi encontrada relação entre o número de linfonodos envolvidos e o nível do Her-2. Porém, Yuan et al.³² reportaram relação, enquanto Imoto et al.³³ demonstraram significância entre a superexpressão da proteína do Her-2 e o número de metástase linfonodal. Observamos que os recepto-



res hormonais e Her2 são elementos importantes na resposta da hormonioterapia e do tratamento imunogenéticos.

Em outro estudo transversal, Bacha et al.³³ realizaram uma análise de 115 prontuários para estudar a associação do Her-2 e linfonodos axilares com outros fatores de prognóstico. Para receptores hormonais não houve associação estatística significativa. Porém, quando comparado o Her-2 com axila positiva, houve achado estatisticamente significativo. Não foi encontrada relação do tamanho tumoral e Her-2 positivo. O trabalho clássico de Valagussa et al.³⁴ mostra um prognóstico sombrio quando há quatro ou mais linfonodos acometidos. No estudo de 11 pacientes com mais de 10 linfonodos acometidos, 10 tinham Her-2 positivo. A presença do Her-2 passa a ser um fator de prognóstico desalentador. Estudos prospectivos, no entanto, se fazem necessários.

Quanto à expressão imunohistoquímica da proteína Her-2 e os estádios do câncer de mama, foi observado que mesmo nas pacientes com axila negativa há evolução sombria. Existe dúvida sobre o valor dos receptores hormonais como fator de prognóstico, mas a expressão aumentada do Her-2 se configura como indicador ruim na evolução do câncer de mama, com probabilidade de aumento de risco de recidiva precoce e sobrevida reduzida³⁵.

Cancello et al.¹⁴ estudaram 2970 pacientes jovens, com ênfase nos subtipos luminal A e B, tendo em vista os receptores hormonais, Her-2 e Ki-67. Pacientes com idade inferior a 35 anos apresentavam um risco aumentado para recorrência e morte quando comparados com pacientes mais velhas (*hazard ratio*=1,65).

Foi demonstrado que em pacientes jovens, com câncer de mama, existiam menos tumores Luminal A e mais casos de carcinoma triplo-negativo quando comparados a pacientes mais idosas. Verificou-se ainda uma relação entre idade e subtipos do câncer de mama bem como alto risco de recorrência local, metástase à distância e morte em pacientes jovens com Her-2 positivo pela imunohistoquímica quando comparados a pacientes com mais idade. Conclui-se que pacientes jovens com tumores triplo-negativo, perfil gênico, Luminal B ou Her-2 positivo têm prognóstico pior quando comparadas com pacientes mais velhas com características similares da doença.

A classificação molecular parece ser um excelente método na avaliação prognóstica no câncer de mama. No estudo realizado por Vallejos et al.³⁶, no qual foram analisados 1.198 pacientes com diagnóstico de câncer de mama entre 2000 e 2002, avaliaram-se as características clinicopatológicas e sobrevida global com quatro subtipos moleculares: Luminal A (RE+/RP+/Her-2-), Luminal B (RE+/RP+/Her-2+), Basal (RE/RP/Her-2-) e Her-2 (RE/RP-/Her-2+), definidos pelo imunofenótipo dos receptores hormonais RE, RP e Her-2 por meio do exame da imunohistoquímica. Foram estudadas as diferenças clinicopatológicas, características e sobrevida. O estudo demonstrou diferença significativa entre os subtipos moleculares

e as características clinicopatológicas. Observou-se associação entre o status dos linfonodos e a imunohistoquímica (RH/Her-2+), com alta significância (valor $p=0,001$). Existia uma grande percentagem do Her-2 quando ligado com positividade nodal. Quando grupos não tinham envolvimento nodal, apresentavam maior prevalência do subtipo Luminal A (52%). Não existia associação entre os subtipos moleculares e lateralidade (valor $p=0,767$) ou status menopausal (valor $p=0,167$). Cada vez mais o conhecimento dos fatores de prognósticos e sua correlação com receptores hormonais e Her-2 têm tido papel fundamental na definição do tratamento do câncer de mama, principalmente nas pacientes que não apresentam axila positiva. Os autores concluíram que existia diferença significativa na distribuição de alguns subtipos moleculares em relação a fatores clínico-patológicos e no prognóstico do câncer de mama.

Os marcadores são importantes na avaliação do curso clínico da doença. Van Belle et al.³⁷ investigaram a relação entre os receptores hormonais e o Her-2 com o Índice Prognóstico de Nottingham (IPN). Este índice clínico-patológico tem sido muito utilizado como base de fatores de prognóstico. Os autores analisaram 1.927 pacientes com câncer de mama no período de 2000 a 2005, quando compararam a performance do IPN associado ou não ao status dos receptores hormonais e do Her-2. A validação dos resultados demonstrou que, quando utilizado o IPN associado à definição dos RH e Her-2, o fator de prognóstico subiu de 20% para 30%. A curva de sobrevida não sofreu alteração nos dois grupos. A adição dos RH e Her-2 no IPN aumentou a acurácia no prognóstico em cinco anos e o IPN pôde ser considerado útil na prática clínica em pacientes com câncer de mama e recebendo tratamento específico.

A determinação de marcadores é útil principalmente para aquelas pacientes que apresentam linfonodos comprometidos. No levantamento realizado por Wang et al.³⁷, estudando o valor de prognóstico dos receptores de estrógeno, receptores de progesterona e do Her-2 em pacientes com axila positiva que foram tratadas com mastectomia, foram avaliadas 835 pacientes com axila positiva no período de 2000 a 2004. As pesquisadas foram separadas em subgrupos baseados no resultado da análise imunohistoquímica dos receptores hormonais e do Her-2. Foi realizada uma comparação das variáveis clínicas com os quatro subgrupos definidos: RH-/Her-2+, RH-/Her-2-, RH+/Her-2+ e RH+/Her-2-, usando Pearson χ^2 com valor $p<0,05$. Demonstraram que as pacientes triplo-negativo (RE, RP e Her-2-) ou RH-/Her-2+ com câncer de mama tinham maior probabilidade de recorrência local e morte. Os pacientes que apresentavam RH-/Her-2+ tinham aumento da frequência de invasão linfovascular (valor $p=0,027$) e aumento na percentagem de casos estudados como N2-N3, positividade linfonodal (valor $p=0,011$, com piora do prognóstico). Fatores como idade, status menopausal, grau histológico, número de linfonodos dissecados e o status de RH não estão associados com significância na recorrência local e sobrevida livre. Como



conclusão, os tumores do subtipo molecular triplo-negativo e o Her-2 + são marcadores de prognóstico para recorrência loco-regional e estão mais predispostos a desenvolver metástase à distância, do que os pacientes que tem RH + e Her - (73% vs 54%) $p=0,014$.

Nesta mesma linha de raciocínio, Gluz et al.³⁸ analisaram 1.118 pacientes e estudaram o impacto no prognóstico dos casos caracterizados como triplo-negativo no câncer de mama. O resultado foi semelhante ao encontrado no trabalho feito na China por Wang et al.³⁷, que relata pior prognóstico desses tumores e resistência ao tratamento adjuvante.

Em um levantamento de Idirisinghe et al.³⁹, analisando 117 pacientes com determinação do status dos receptores hormonais e o do Her-2, foram comparados pacientes que tinham metástase à distância (72) e recorrência local (45) e analisado o impacto na sobrevida. Foi observada tendência de sobrevida curta entre mulheres com receptores de estrogênio e progesterona negativos com metástase e recidiva local. Os receptores hormonais são importantes para a avaliação da sobrevida dos pacientes e, quando associado a outros fatores de prognóstico, como idade, tamanho tumoral e axila, esta evidência fica mais forte. Os achados sugerem um benefício na rotina clínica pelo uso da imunohistoquímica para detecção dos RE, RP e Her-2 em pacientes com metástase à distância e recorrência local para definir melhor proposta terapêutica e prognóstico^{40,41}.

No Royal Marsden Hospital, em Londres, Reis-Filho et al.⁹ realizaram um estudo sobre os avanços do tratamento sistêmico em pacientes jovens com câncer de mama e o impacto na sobrevida dos pacientes na ausência de positividade para os RH e positividade para o Her-2. Nos últimos anos, tem havido grande interesse no estudo dos receptores hormonais e Her-2. Esses tumores são relativamente agressivos no curso clínico, com desenvolvimento precoce de metástase visceral e pior prognóstico. Embora deva ser observado que os tumores triplo-negativos compreendem um grupo heterogêneo de tumores, estes subtipos moleculares devem ser estudados bastante para identificar um alvo terapêutico mais eficaz e individualizado no tratamento das pacientes com este tipo molecular.

Conclusão

Podemos avaliar, após análise dos trabalhos aqui apresentados, que os pacientes com imunoposição da proteína Her-2 apresentam alto risco de recidiva precoce e menor sobrevida que aqueles com ausência de expressão. O Her-2, nos últimos anos, têm sido bastante estudados, principalmente em relação à sua influência no comportamento biológico e, mais recentemente, como alvo terapêutico. Os receptores hormonais já têm seu papel assegurado como importante elemento na avaliação clínica pós-diagnóstico do câncer de mama. Os receptores hormonais

positivos tendem a apresentar maior sobrevida que as pacientes com tumores com receptores negativos.

Devido à heterogeneidade da doença, observamos que existe divergência nos diversos trabalhos e controvérsias no valor dos fatores determinados pelo exame imunohistoquímico no prognóstico. Porém, quando associada a fatores clínico-patológicos, esta correlação fica mais evidente. O câncer de mama, por sua etiologia multifatorial, apresenta variedade morfológica, características moleculares, comportamento e resposta a terapias diferentes.

Nos trabalhos posteriores, acreditamos serem necessários estudos com maior período de seguimento e nos quais sejam avaliados, em conjunto, os fatores clínicos e histopatológicos tradicionais e aqueles obtidos pelo exame imunohistoquímico e pela biologia molecular.

Referências

1. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2008: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA 2007. Disponível em http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/estimativa_incidencia_cancer_2008.pdf
2. Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol*. 2001;2(9):533-43.
3. Gonçalves ATC, Jobim PFC, Vanacor R, Nunes LN, Albuquerque IM, Bozzetti MC. Câncer de mama: mortalidade crescente na Região Sul do Brasil entre 1980 e 2002. *Cad Saúde Pública*. 2007;23(8):1785-90.
4. Schwartzmann G. Breast cancer in South America: challenges to improve early detection and medical management of a public health problem. *J Clin Oncol*. 2001;19:118-24.
5. Tavassoli FA, Devilee P, editors. World Health Organization classification of tumors: pathology and genetics of tumors of the breast and female genital organs. Lyon: IARC Press; 2003.
6. American Cancer Society. Leading sites of new cancer cases and deaths-2005 estimates. Disponível em www.cancer.org/acs/groups/content/nho/documents/document/caff2005fapwsecurepdf.pdf.
7. Eisenberg ALA, Koifman S. Câncer de mama: marcadores tumorais. *Rev Bras Cancerol*. 2001;47(4):377-88.
8. Allemanni C, Sant M, Berrino F, Aareleid T, Chaplain G, Coebergh JW, et al. Prognostic value of morphology and hormone receptor status in breast cancer – a population-based study. *Br J Cancer*. 2004;91(7):1263-8.
9. Reis-Filho JS, Westbury C, Pierga JY. The impact of expression profiling on prognostic and predictive testing in breast cancer. *J Clin Pathol*. 2006;59(3):225-31.
10. Berry DA, Cronin KA, Plevritis SK, Fryback DG, Clarke L, Zelen M, et al. Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer. *N Engl J Med*. 2005;353(17):1784-92.
11. Crowe JP, Gordon NH, Hubay CA, Shenk RR, Zollinger RM, Brumberg DJ, et al. Estrogen receptor determination and long term survival of patients with carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet*. 1991;173(4):273-8.
12. Uemura G, de Luca L, Rodrigues JRP, Vespoli HM, Carvalho LR, Traiman P. Um estudo da expressão de marcadores imunohistoquímicos



- cos (receptor de estrogênio, P53 e HER-2) e fatores anatomo-clínicos de câncer de mama em pacientes axila-negativas. *Rev Bras Mastol.* 2003;13(3):127-32.
13. Van Belle V, Van Calster B, Brouckaert O, Bempt IV, Pintens S, Harvey V, et al. Qualitative assessment of the progesterone receptor and HER-2 improves the Nottingham prognostic index up to 5 years after breast cancer diagnosis. *J Clin Oncol.* 2010;28(27):4129-34.
 14. Canello G, Maisonneuve P, Rotmensz N, Viale G, Mastropasqua MG, Pruneri G, et al. Prognosis and adjuvant treatment effects in selected breast cancer subtypes of very young women (<35 years) with operable breast cancer. *Ann Oncol.* 2010;21(10):1974-81.
 15. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global Cancer Statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005;55(2):74-108.
 16. Coughlin SS, Ekwueme DU. Breast cancer as a global health concern. *Cancer Epidemiol.* 2009;33(5):315-8.
 17. Bernoux A, de Cremoux P, Lainé-Bidron C, Martin EC, Asselain B, Magdelénat H. Estrogen receptor negative e progesterone receptor positive primary breast cancer: pathological characteristics and clinical outcome. Institut Curie Breast Cancer Study Group. *Breast Cancer Res Treat.* 1998;49(3):219-25.
 18. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science.* 1987;235(4785):177-8.
 19. Hartmann LC, Ingle JN, Wold LE, Farr GH Jr, Grill JP, Su JQ, et al. Prognostic value of c-erbB2 overexpression in axillary lymph node positive breast cancer. Results from a randomized adjuvant treatment protocol. *Cancer.* 1994;74(11):2956-63.
 20. Lialaris TS, Georgiou G, Strydis E, Kareli D, Tripsiannis G, Papa-georgiou A, et al. Prognostic and predictive factors of invasive ductal breast carcinomas. *J Buon.* 2010;15(11):79-88.
 21. Constantinidou A, Jones RL, Reis-Filho JS. Beyond triple-negative breast cancer: the need to define new subtypes. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2010;10(8):1197-213.
 22. Pugliese M, Stempel M, Patil S, Hsu M, Ho A, Traina T, et al. The clinical impact and outcomes of immunohistochemistry-only metastasis in breast cancer. *Am J Surg.* 2010;200(3):368-73.
 23. Ricci MS, Junqueira PAA. Marcadores moleculares em câncer de mama preditivos de metástases axilares. *Rev Assoc Med Bras.* 2008;54(3):189.
 24. Brenin DR, Manasseh DM, El-Tamer M, Troxel A, Schnabel F, Dittkoef BA, et al. Factors correlating with lymph node metastases in patients with T1 breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2001;8(5):432-7.
 25. Viale G, Zurrida S, Maiorano E, Mazzarol G, Pruneri G, Paganelli G, et al. Predicting the status of axillary sentinel lymph nodes in 4351 patients with invasive breast carcinoma treated in a single institution. *Cancer.* 2005;103(3):492-500.
 26. Farzadnia M, Meibodi NT, Shandiz FH, Mahmoudi M, Bahar MM, Memar B, et al. Evaluation of HER2/neu oncoprotein in serum and tissue samples of women with breast cancer: correlation with clinicopathological parameters. *Breast.* 2010;19(6):489-92.
 27. Molina R, Ciocca DR, Tandon AK, Allred DC, Clark GM, Chammess GC, et al. Expression of HER-2/neu oncoprotein in human breast cancer: a comparison of immunohistochemical and western blot techniques. *Anticancer Res.* 1992;12(6B):1965-71.
 28. Rilke F, Colnaghi MI, Cascinelli N, Andreola S, Baldini MT, Bufalino R, et al. Prognostic significance of HER-2/neu expression in breast cancer and its relationship to other prognostic factors. *Int J Cancer.* 1991;49(1):44-9.
 29. Gullick WJ, Love SB, Wright C, Barnes DM, Gusterson B, Harris AL, et al. c-erbB-2 protein overexpression in breast cancer is a risk factor in patients with involved and uninvolved lymph nodes. *Br J Cancer.* 1991;63(3):434-8.
 30. Choi DH, Shin DB, Lee MH, Lee DW, Dhandapani D, Carter D, et al. A comparison of five immunohistochemical biomarkers and HER-2/neu gene amplification by fluorescence in situ hybridization in white and Korean patients with early-onset breast carcinoma. *Cancer.* 2003;98(8):1587-95.
 31. Imoto S, Kitch T, Hasebe T. Serum c-erbB-2 levels in monitoring of operable breast cancer patients. *Jpn J Clin Oncol.* 1999;29(7):336-9.
 32. Yuan P, Xu BH, Zhang C, Qi J. Serum her-2/neu level and related factors in patients with breast cancer. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 2003;25(6):573-4.
 33. Bacha OM, Zeitler CG, Gonzales F, Grossmann S. Associação do c-erbB-2 com linfonodos axilares e outros fatores prognósticos no câncer de mama. *Rev Soc Bras Oncol Clin.* 2004;1(3):31-4.
 34. Valagussa P, Bonadonna G, Veronesi U. Patterns of relapse and survival following radical mastectomy. Analysis of 716 consecutive patients. *Cancer.* 1978;41(3):1170-8.
 35. Soueri J, Carvalho FM. Relação entre a expressão imunohistoquímica da proteína HER-2 e os estádios de cânceres de mama e o status dos linfonodos. *Rev Bras Mastol.* 2002;12(3):11-4.
 36. Vallejos CS, Gomez HC, Cruz WR, Pinto JA, Dyer RR, Velarde R, et al. Breast cancer classification according to immunohistochemistry markers: subtypes and association with clinicopathologic variables in Peruvian Hospital Database. *Clin Breast Cancer.* 2010;10(4):294-300.
 37. Wang SL, Li YX, Song YW, Wang WH, Jin J, Liu YP, et al. Triple-negative or HER2-positive status predicts higher rates of locoregional recurrence in node-positive breast cancer patients after mastectomy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2010;80(4):1095-101.
 38. Gluz O, Liedtke C, Gotschalk N, Pusztai L, Nitz U, Harbeck N. Triple-negative breast cancer – current status and future directions. *Ann Oncol.* 2009;20(12):1913-27.
 39. Idrisinghe PK, Thike AA, Cheok PY, Tse GM, Lui PC, Fook-Chong S, et al. Hormone receptor and c-ERBB2 status in distant metastatic and locally recurrent breast cancer. Pathologic correlations and clinical significance. *Am J Clin Pathol.* 2010;133(3):416-29.
 40. Costa SD, Lange S, Klinga K, Merkle E, Kaufmann M. Factors influencing the prognostic role of oestrogen and progesterone receptor levels in breast cancer – results of the analysis of 670 patients with 11 years of follow-up. *Eur J Cancer.* 2002;38(10):1329-34.
 41. Kim MJ, Ro JY, Ahn SH, Kim HH, Kim SB, Gong G. Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer: a comparison with hormone receptor and Her2/neu-overexpressing phenotypes. *Hum Pathol.* 2006;37(9):1217-26.