

Perfil imuno-histoquímico e variáveis clinicopatológicas no câncer de mama

JANE ROCHA DUARTE CINTRA¹, MARIA TERESA BUSTAMANTE TEIXEIRA², ROBERTA WOLP DINIZ³, HOMERO GONÇALVES JUNIOR⁴, THIAGO MARINHO FLORENTINO⁵, GUILHERME FIALHO DE FREITAS⁵, LUIZ RAPHAEL MOTA OLIVEIRA⁵, MARIANA TEODORO DOS REIS NEVES⁵, TALITA PEREIRA⁶, MAXIMILIANO RIBEIRO GUERRA²

¹Doutoranda e Mestre em Saúde Brasileira; Coordenadora do Programa de Residência Médica do Hospital 9 de Julho – Instituto Oncológico, Juiz de Fora, MG, Brasil

²Doutores em Saúde Coletiva, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ); Professores Adjuntos da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

³Mestranda em Saúde Coletiva, Núcleo de Assessoria, Treinamento e Estudos em Saúde (NATES/UFJF); Oncologista do Hospital 9 de Julho – Instituto Oncológico, Juiz de Fora, MG, Brasil

⁴Mestre em Medicina (Ginecologia), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ); Professor Adjunto, UFJF, Juiz de Fora, MG, Brasil

⁵Acadêmicos do Curso de Medicina, UFJF, Juiz de Fora, MG, Brasil

⁶Acadêmico do Curso de Medicina, Universidade Presidente Antonio Carlos (UNIPAC), Juiz de Fora, MG, Brasil

RESUMO

Objetivo: Descrever as principais características em mulheres com câncer de mama, de acordo com o perfil imuno-histoquímico. **Métodos:** A população foi composta a partir de coorte hospitalar formada por mulheres com diagnóstico de câncer de mama efetuado entre 2003 e 2005 (n = 601) e atendidas em centro de referência em assistência oncológica de Juiz de Fora-MG. Foram selecionadas apenas 397 mulheres que possuíam imuno-histoquímica completa. Para definição dos grupos segundo perfil imuno-histoquímico, optou-se por classificação baseada na avaliação dos receptores de estrogênio e de progesterona, índice de proliferação celular Ki67 e superexpressão de HER2. De acordo com os diferentes fenótipos, foram definidos cinco subtipos: luminal A, luminal B-HER2 negativo, luminal B-HER2 positivo, triplo negativo e HER2 superexpresso. **Resultados:** A maioria dos pacientes tinha pele branca (80,7%) e era pós-menopausada (64,9%), com idade média de 57,4 anos ($\pm 13,5$). Ao diagnóstico, 57,5% delas tinha tumor de tamanho $\geq 2,0$ cm, e 41,7% exibiam comprometimento linfonodal. Os subtipos mais frequentes foram luminal B-HER2 negativo (41,8%) e triplo negativo (24,2%). No subtipo luminal A, 72,1% das pacientes eram pós-menopausadas, enquanto que os maiores percentuais na pré-menopausa foram observados nos subtipos luminal B-HER2 positivo e triplo negativo (45,2% e 44,2%, respectivamente). Verificou-se maior frequência de tumores $> 2,0$ cm e com linfonodos comprometidos nos subtipos triplo negativo e HER2 positivo. **Conclusão:** Esta pesquisa possibilitou avaliar a distribuição das principais características clinicopatológicas e relacionadas aos serviços de saúde em coorte de mulheres brasileiras com câncer de mama, segundo os subtipos tumorais imuno-histoquímicos.

Unitermos: Receptores de progesterona; receptor erbB-2; neoplasias da mama; imuno-histoquímica; receptores estrogênicos; antígeno Ki-67.

©2012 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados

Trabalho realizado no Instituto Oncológico – Hospital 9 de Julho, Juiz de Fora, MG; em parceria com a Faculdade de Medicina – UFJF; Núcleo de Assessoria, Treinamento e Estudos em Saúde (NATES) – UFJF; Campus Universitário; e com a Faculdade de Medicina, Universidade Presidente Antônio Carlos (UNIPAC); Campus Granjas Bethânia, Juiz de Fora, MG, Brasil

Artigo recebido: 25/08/2011
Aceito para publicação: 19/12/2011

Correspondência para:
Jane Rocha Duarte Cintra
Instituto Oncológico
Hospital 9 de Julho
Rua Santos Dumont, 56
Granbery
Juiz de Fora – MG, Brasil
CEP: 36010-510
janerde@terra.com.br

Conflito de interesse: Não há.

SUMMARY

Immunohistochemical profile and clinical-pathological variables in breast cancer

Objective: To describe the main characteristics of women with breast cancer, according to the immunohistochemical profile. **Methods:** The population comprised a hospital cohort, consisting of women diagnosed with breast cancer between 2003 and 2005 (n = 601) and treated at a referral center for cancer care in Juiz de Fora, MG, Brazil. Only 397 women who had complete immunohistochemistry analysis were selected. To define the groups according to the immunohistochemical profile, the assessment of estrogen and progesterone receptors, Ki-67 cell proliferation index, and overexpression of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) was chosen. According to the different phenotypes, five subtypes were defined: luminal A, luminal B HER2 negative, luminal B HER2 positive, triple negative, and HER2 overexpression. **Results:** Most patients were white (80.7%) and post-menopausal (64.9%), with a mean age of 57.4 years (± 13.5). At diagnosis, 57.5% had tumor size ≥ 2.0 cm, and 41.7% had lymph node involvement. The most common subtypes were luminal B - HER2 negative (41.8%) and triple negative (24.2%). In the luminal A subtype, 72.1% of patients were post-menopausal, while the highest percentage of premenopausal women were observed in the luminal B - HER2 positive and triple negative subtypes (45.2% and 44.2%, respectively). A higher frequency of tumors > 2.0 cm and lymph node involvement was observed in triple negative and HER2 positive subtypes. **Conclusion:** This study allowed the distribution assessment of the main clinical and pathological characteristics and those related to health services in a cohort of Brazilian women with breast cancer, according to the immunohistochemical tumor subtypes.

Keywords: Progesterone receptors; erbB2 receptor; breast neoplasias; immunohistochemistry; estrogen receptors; Ki-67 antigen.

©2012 Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

INTRODUÇÃO

O câncer de mama é a neoplasia de maior incidência na população feminina mundial¹⁻³. Em relação à mortalidade, essa neoplasia representou cerca de 13,7% do total de mortes por câncer no mundo no ano de 2008, com a exceção dos tumores de pele não melanomas². Na população norte-americana, houve redução de 12,3% nas taxas de mortalidade por câncer de mama entre os anos de 1991 a 2006, o que foi atribuído principalmente à ampliação do rastreamento mamográfico⁴.

No Brasil foram estimados aproximadamente 49.240 novos casos de câncer de mama em 2010⁵. Com base em dados dos registros de câncer de base populacional nacional, as incidências da doença são similares às aquelas observadas em países desenvolvidos^{6,7}. Trata-se da principal causa de óbito por câncer feminino no país^{8,9}, que chegou a 11.735 casos em 2008⁵. Segundo dados da Secretária de Vigilância em Saúde, a população feminina de maior risco de adoecimento encontra-se na faixa etária entre 50 e 69 anos. Entretanto, ainda existem importantes limitações para que todas essas mulheres tenham acesso às medidas preventivas secundárias relativas a esse câncer¹⁰.

A heterogeneidade tumoral do carcinoma da mama é um dos maiores desafios a ser enfrentado tendo em vista que tumores com os mesmos tipos histológicos, estádios e graus de diferenciação podem apresentar desfechos distintos em relação aos fatores prognósticos e às respostas aos tratamentos instituídos^{11,12}. Percebe-se que, para melhor entendimento e caracterização dos tumores da mama, a classificação tradicional atualmente utilizada se mostra insuficiente¹². Uma abordagem abrangente é necessária e inclui as características morfológicas, avaliação da agressividade tumoral, com especial referência para tipo histológico, presença de resposta inflamatória, número de mitoses, polimorfismo nuclear e comprometimento endotelial vascular e linfático¹³⁻¹⁵. Acredita-se que as divergências evidenciadas no comportamento biológico entre tumores microscopicamente similares possam ser justificadas pela complexidade do câncer de mama e pelo acúmulo de alterações moleculares^{15,16}.

Os avanços observados nas técnicas de biologia molecular têm proporcionado melhor conhecimento sobre os mecanismos que regulam a diferenciação e a proliferação celulares^{17,18}. Acúmulo de mutações, alterações genéticas e instabilidades cromossômicas que estimulam a proliferação e o dano celular prejudicam continuamente o sistema de regulação do crescimento e da apoptose, além de provocarem o surgimento do câncer. Esses fatores são frequentemente reconhecidos, e novos biomarcadores preditivos e prognósticos são testados em amostras de tumor, por meio do método imuno-histoquímico^{11,19}.

A expressão dos receptores hormonais [receptores de estrógeno (RE) e receptores de progesterona (RP)] e a superexpressão ou amplificação do fator de crescimento

humano epidérmico receptor-2 (HER2) foram identificadas como importantes fatores preditivos entre as pacientes com câncer de mama^{20,21}. Atualmente esses marcadores são comumente usados para definição do tratamento e estabelecimento do prognóstico da doença, associados a variáveis clínicas e patológicas, tais como o envolvimento linfonodal, tamanho do tumor, tipo histológico, grau do tumor e margens cirúrgicas^{22,23}.

Aproximadamente dois terços dos tumores da mama expressam ativação para RE e RP no núcleo tumoral e, portanto, são candidatos à terapia antiestrogênica²⁴. Outros 20% apresentam amplificação para HER2 e podem se beneficiar de terapia alvo dirigida, com a droga trastuzumab, que é um anticorpo monoclonal que pode ser usado isolado ou associado à quimioterapia, reduzindo o risco de recaída em 50%, quando usado em indicação de adjuvância²⁵⁻²⁷.

Com o melhor entendimento da estrutura da sequência do DNA humano e com o desenvolvimento de métodos de alta tecnologia, como o cDNA *microarrays*, grandes mudanças nas pesquisas relacionadas ao câncer têm sido possíveis²⁸. Vários estudos já estão utilizando essa técnica de sequenciamento de DNA para melhor compreensão da grande diversidade presente entre os tumores histologicamente semelhantes²⁹.

A definição segundo o perfil imuno-histoquímico é baseada na avaliação dos RE e RP, superexpressão de HER2 e índice de proliferação celular Ki67 (anticorpo monoclonal que detecta um antígeno nuclear, expressando células que entram no ciclo celular e medindo a fração de crescimento celular)³⁰⁻³³. De acordo com os diferentes fenótipos obtidos, são definidos cinco subtipos atualmente: luminal A (RE+, RP+, HER2-), luminal B-HER2 negativo (RE+ e/ou RP+, HER2-), luminal B-HER2 positivo (RE+ e/ou RP+, HER2+), triplo negativo (RE-, RP-, HER2-) e HER2 superexpresso (RE-, RP-, HER2+)³⁰. Os tumores luminais têm sido associados a prognósticos mais favoráveis, enquanto os subtipos triplo negativo e a superexpressão de HER2, a prognósticos mais reservados^{34,35}. Os tumores triplo negativo apresentam maior risco de recorrência no período de três anos e maiores taxas de mortalidade em cinco anos, quando comparados aos outros subgrupos^{36,37}.

Considerando as implicações atuais na abordagem terapêutica do câncer da mama, deve ser estimulada a realização de estudos que propiciem uma melhor compreensão acerca da seleção dos marcadores mais adequados a serem utilizados na prática clínica em nosso país, bem como um melhor entendimento quanto à distribuição da doença nas mulheres brasileiras. Este estudo tem como objetivo avaliar a distribuição das principais características em mulheres com câncer de mama segundo perfil de receptores hormonais (RE e RP), expressão de HER2 e índice de proliferação celular Ki67, por meio do método imuno-histoquímico.

MÉTODOS

POPULAÇÃO DE ESTUDO

A população deste estudo foi composta a partir de um coorte de base hospitalar formada por todas as mulheres com diagnóstico de câncer de mama efetuado entre janeiro de 2003 e dezembro de 2005 (n = 601), atendidas em centro de referência em assistência oncológica da cidade de Juiz de Fora – MG. A análise do perfil imuno-histoquímico possibilitou constatar que 89 casos apresentavam perfil incompleto (HER2 e/ou Ki67 ausentes) e 115 casos não exibiam tal informação nos prontuários, tendo sido selecionadas para este estudo, portanto, apenas as mulheres que possuíam painel imuno-histoquímico completo (n = 397).

COLETA DE DADOS E VARIÁVEIS DO ESTUDO

O recrutamento dos casos foi realizado a partir do registro de câncer de base hospitalar do citado centro de referência. Por meio de busca ativa nos arquivos médicos foi efetuada a coleta das informações das pacientes previamente identificadas, com a utilização de ficha padronizada.

A definição do perfil imuno-histoquímico dos tumores foi realizada a partir dos resultados de laudos emitidos por serviços de anatomia patológica de reconhecida qualidade técnica, baseando-se na avaliação dos RE e RP, superexpressão de HER2 e índice de proliferação celular Ki67. De acordo com os diferentes fenótipos obtidos, foram definidos cinco subtipos imuno-histoquímicos: luminal A (RE+, RP+, HER2-), luminal B-HER2 negativo (RE+ e/ou RP+, HER2-), luminal B-HER2 positivo (RE+ e/ou RP+, HER2+), triplo negativo ou basal (RE-, RP-, HER2-) e HER2 superexpresso (RE-, RP-, HER2+)³⁰. Segundo o *Consensus St. Gallen* de 2011, o índice Ki67 é considerado como baixo ou negativo quando inferior a 14% e como positivo ou alto quando igual ou superior a esse valor²⁹. Na população de estudo, entretanto, esse marcador foi pontuado como nulo (sem imunomarcagem), baixo (10% ou menor imunopositividade) ou alto (> 10% de células imunorreativas), com base em critério adotado na época do diagnóstico dos casos³⁸. Para este estudo, o índice de Ki67 foi considerado como baixo para os casos com valor < 10% de imunopositividade e alto para aqueles com valor ≥ 10%.

Foram analisadas as seguintes variáveis: data do diagnóstico; idade ao diagnóstico (em anos), categorizada em: até 39, 40-49, 50-69 e maior ou igual a 70, e dicotomizada em menor ou igual a 50, e maior que 50 (ponto de corte validado como marcador para *status* menopausal)³⁹; cor da pele (classificada em branca e não branca); variáveis relativas aos serviços de saúde: natureza do serviço de oncologia (público – conveniado com o SUS – ou privado), presença de plano privado de saúde, tipo de cirurgia (com intenção curativa ou com finalidade apenas diagnóstica: biópsia excisional ou nodulectomia sem abordagem de linfonodos), terapia complementar (radioterapia,

quimioterapia ou hormonioterapia); e características tumorais: tamanho tumoral (categorizado em: ≤ 2,0 cm e > 2,0 cm), tipo histológico, comprometimento linfonodal, estadiamento de acordo com a Classificação TNM da União Internacional Contra o Câncer (UICC)⁴⁰ e presença de metástases (sistêmicas ou locorregionais; ao diagnóstico e durante o curso da doença – esta última considerada por meio de informações obtidas no momento da coleta de dados, realizada no ano de 2010).

ANÁLISE DOS DADOS

O programa EPI INFO versão 3.5.3 (2011) foi utilizado para a entrada e análise dos dados. As diferenças na distribuição das variáveis do estudo foram avaliadas pelo teste qui-quadrado (χ^2) e, quando necessário, pelo teste exato de Fisher (programa SPSS 8.0), considerando-se estatisticamente significativas aquelas com p-valor < 0,05. A realização do presente estudo foi autorizada pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora – Parecer nº. 042/2008.

RESULTADOS

De acordo com o perfil imuno-histoquímico, a população de estudo foi distribuída nos subtipos luminal A: 17,1%; luminal B-HER2 negativo: 41,8%; luminal B-HER2 positivo: 10,8%; superexpressão de HER2: 6,0%; e triplo negativo: 24,2%. O tipo histológico predominante foi o ductal infiltrante (73,3%), seguido pelo lobular infiltrante (9,8%) e outras variantes histológicas (8,6%), sendo 7,0% dos casos representados por carcinoma *in situ*.

A distribuição das principais características clínicas segundo os subtipos de câncer de mama classificados pela imuno-histoquímica é apresentada na Tabela 1. A idade média ao diagnóstico foi de 57,4 anos (amplitude de 26 a 91 anos), com mediana de 58,0 anos (percentis 25%: 46,0 e 75%: 67,0), sendo que 73% das pacientes tinham entre 40 e 69 anos. Apenas 27 mulheres (6,9%) apresentavam idade inferior a 39 anos. Entre as pacientes com superexpressão de HER2 foram identificados dois picos de maior frequência de casos: entre 40 e 59 anos; e com 70 anos ou mais.

A maioria das mulheres apresentava cor da pele branca (80,7%), observando-se maior percentual de cor da pele não branca no subtipo triplo negativo (39,7%) e de cor da pele branca no subtipo luminal B-HER2 negativo (45,4%) (p = 0,02).

A idade dicotomizada para a caracterização do *status* menopausal mostrou que 64,9% das pacientes encontravam-se na pós-menopausa. Para o subtipo luminal A, constatou-se que 72,1% das pacientes eram pós-menopausadas, enquanto que para os subtipos luminal B-HER2 positivo e triplo negativo foram verificados os maiores percentuais de mulheres na pré-menopausa (45,2% e 44,2%, respectivamente; p = 0,07).

Tabela 1 – Distribuição das características clínicas segundo subtipos de câncer de mama classificados pela imuno-histoquímica

Características	Luminal A	Luminal B-HER2 negativo	Luminal B-HER2 positivo	HER2	Triplo negativo	Total casos e %	p-valor
Cor da pele*							0,02
Branca	50	129	28	17	60	284	
Linha %	17,6	45,4	9,9	6,0	21,1	100	
Col %	89,3	84,9	77,8	81,0	69,0	80,7	
Não branca	6	23	8	4	27	68	
Linha %	8,8	33,8	11,8	5,9	39,7	100	
Col %	10,7	15,1	22,2	19,0	31,0	19,3	
Idade ao diagnóstico#							0,5
< 40	2	14	6	1	4	27	
Linha %	7,4	51,9	22,2	3,7	14,8	100	
Col %	2,9	8,5	14,3	4,2	4,2	6,9	
40-49	16	36	11	6	34	103	
Linha %	15,5	35,0	10,7	5,8	33,0	100	
Col %	23,5	22,0	26,2	25,0	35,8	26,2	
50-59	15	38	7	6	19	85	
Linha %	17,6	44,7	8,2	7,1	22,4	100	
Col %	22,1	23,2	16,7	25,0	20,0	21,6	
60-69	21	44	8	5	21	99	
Linha %	21,2	44,4	8,1	5,1	21,2	100	
Col %	30,9	26,8	19,0	20,8	22,1	25,2	
≥ 70	14	32	10	6	17	79	
Linha %	17,7	40,5	12,7	7,6	21,5	100	
Col %	20,6	19,5	23,8	25,0	17,9	20,1	
Status menopausal*							0,07
Pós-menopausa	49	113	23	17	53	255	
Linha %	19,2	44,3	9,0	6,7	20,8	100	
Col %	72,1	68,9	54,8	70,8	55,8	64,9	
Pré-menopausa	19	51	19	7	42	138	
Linha %	13,8	37,0	13,8	5,1	30,4	100	
Col %	27,9	31,1	45,2	29,2	44,2	35,1	

*Teste de χ^2 ; #teste de Fisher. O total de casos de cada variável pode diferir devido à ocorrência de dados ignorados.

As características patológicas segundo os subtipos considerados são apresentadas na Tabela 2. Ao diagnóstico, 57,5% das pacientes possuíam tumores > 2,0 cm, e 41,7% apresentavam comprometimento linfonodal pela doença da mama. Os maiores percentuais de tumores > 2,0 cm foram observados entre os subtipos superexpressão de HER2, luminal B-HER2 positivo e triplo negativo (78,9%, 70,0% e 60,6%, respectivamente), enquanto entre o subtipo luminal A foi verificado tumor ≤ 2,0 cm em 58,7% dos casos (p = 0,009). Destaca-se que os maiores percentuais de tumores > 5 cm foram verificados nos subtipos luminal B-HER2 positivo e triplo negativo (17,5% e 13,8%, respectivamente; p = 0,03 – dados não apresentados). Entre os

subgrupos envolvidos com a maior frequência de comprometimento linfonodal sobressaíram-se: luminal B-HER2 positivo: 53,8%; triplo negativo: 48,9%; e superexpressão de HER2: 40,9%; enquanto o luminal A apresentou o menor percentual (12,3%) (p = 0,05). Verificou-se maior frequência de tumores > 2,0 cm e linfonodos comprometidos entre os subtipos triplo negativo, luminal B-HER2 positivo e HER2 amplificado.

Para o subtipo luminal A, 92% dos tumores exibiam estádios mais iniciais (*in situ*: 7,9%; I: 44,4%; II: 39,7%), enquanto que para os outros subgrupos evidenciaram-se maiores percentuais nos estádios II e III (luminal B-HER2 positivo: 72,1%; triplo negativo: 71,2%; superexpressão

Tabela 2 – Distribuição das características patológicas segundo subtipos de câncer de mama classificados pela imuno-histoquímica

Características	Luminal A	Luminal B-HER2 negativo	Luminal B-HER2 positivo	HER2	Triplo negativo	Total casos e %	p-valor
Tamanho do tumor [#]							0,009
≤ 2,0 cm	37	68	12	4	37	158	
Linha %	23,4	43,0	7,6	2,5	23,4	100	
Col %	58,7	43,6	30,0	21,1	39,4	42,5	
> 2,0 cm	26	88	28	15	57	214	
Linha %	12,1	41,1	13,1	7,0	26,6	100	
Col %	41,3	56,4	70,0	78,9	60,6	57,5	
Linfonodos*							0,05
Negativos	48	90	18	13	46	215	
Linha %	22,3	41,9	8,4	6,0	21,4	100	
Col %	71,6	59,6	46,2	59,1	51,1	58,3	
Positivos	19	61	21	9	44	154	
Linha %	12,3	39,6	13,6	5,8	28,6	100	
Col %	28,4	40,4	53,8	40,9	48,9	41,7	
Metástases (ao diagnóstico e no curso da doença)*							0,0005
Ausente	62	139	38	14	69	322	
Linha %	19,3	43,2	11,8	4,3	21,4	100	
Col %	91,2	83,7	88,4	58,3	71,9	81,1	
Presente	6	27	5	10	27	75	
Linha %	8,0	36,0	6,7	13,3	36,0	100	
Col %	8,8	16,3	11,6	41,7	28,1	18,9	
Estadiamento [#]							0,001
In situ	5	11	3	3	1	23	
Linha %	21,7	47,8	13,0	13,0	4,3	100	
Col %	7,9	7,1	7,0	13,6	1,1	6,1	
I	28	43	8	3	23	105	
Linha %	26,7	41,0	7,6	2,9	21,9	100	
Col %	44,4	27,6	18,6	13,6	24,5	27,8	
II	25	67	17	11	35	155	
Linha %	16,1	43,2	11,0	7,1	22,6	100	
Col %	39,7	42,9	39,5	50,0	37,2	41,0	
III	3	29	14	3	32	81	
Linha %	3,7	35,8	17,3	3,7	39,5	100	
Col %	4,8	18,6	32,6	13,6	34,0	21,4	
IV	2	6	1	2	3	14	
Linha %	14,3	42,9	7,1	14,3	21,4	100	
Col %	3,2	3,8	2,3	9,1	3,2	3,7	

[#]Teste de Fisher; *teste de χ^2 . O total de casos de cada variável pode diferir devido à ocorrência de dados ignorados.

HER2: 63,6%; luminal B-HER2 negativo: 61,5%). Ao diagnóstico, foi identificada maior frequência de doença em estágio IV para o subtipo HER2 amplificado (9,1%). No

tocante ao estado menopausal, observaram-se maiores percentuais de casos com estágios iniciais nas mulheres na pós-menopausa (*in situ*: 73,9%; I: 72,1%; II: 63,6%),

enquanto as mulheres na pré-menopausa exibiram maiores percentuais de doença avançada (III: 48,8% e IV: 21,4%; $p = 0,02$ – dados não apresentados).

A doença metastática ao diagnóstico foi evidenciada em 15 mulheres (4,6%), algumas com mais de um sítio metastático envolvido, sendo os mais frequentes: ósseo (70,5%), hepático (23,5%); e pulmonar (17,6%). No curso da doença, 15,9% das pacientes ($n = 63$) desenvolveram disseminação sistêmica. Entre os subtipos mais envolvidos com o aumento da morbidade destacaram-se: HER2 amplificado (50,0%) e triplo negativo (48,0%), quando comparados aos subtipos luminal A (13,8%) e luminal B-HER2 positivo (19,2%), estes últimos relacionados à menor incidência de metástases a distância ($p = 0,004$ – dados não apresentados). Entre as 16 (7,3%) mulheres que apresentaram recorrência local e regional da doença, os subtipos HER2 positivo e triplo negativo também foram responsáveis pelos maiores percentuais (14,3% e 12,2%, respectivamente), sendo que, no subgrupo luminal A, foi identificada apenas uma paciente com recidiva local. Não foi observada diferença significativa na distribuição da presença de metástases (ao diagnóstico e no curso da doença) na população de estudo, segundo a natureza do serviço de saúde (público *versus* privado – dados não apresentados).

A distribuição das características relacionadas à utilização dos serviços de saúde é apresentada na Tabela 3. O maior percentual dos casos utilizou assistência oncológica da rede privada de saúde (56,4%). Entre os subtipos HER2 superexpresso, luminal B-HER2 negativo e luminal A, a maioria das pacientes foi atendida pelo serviço privado de saúde (83,3%, 59,0% e 54,4%, respectivamente), enquanto entre os subtipos luminal B-HER2 positivo e triplo negativo constatou-se distribuição uniforme entre a assistência oncológica da rede de saúde pública (SUS) e privada ($p = 0,03$). Entre as mulheres atendidas pelo serviço público, 5,6% possuíam plano privado de saúde.

A maioria das mulheres foi submetida à cirurgia com intenção curativa (93,8%). Evidenciaram-se maiores percentuais de cirurgia curativa entre os casos com estádios I (99,0%), II (92,9%) e III (97,4%), e de cirurgia diagnóstica entre aqueles com estágio IV (53,8%) ($p = 0,000$), não sendo observada diferença significativa na distribuição dos casos quanto à indicação da cirurgia (curativa ou diagnóstica) segundo os subtipos imuno-histoquímicos estabelecidos. No que se refere ao tratamento sistêmico (quimioterapia e/ou hormonioterapia), 95,1% das pacientes receberam algum tipo de abordagem terapêutica, sendo que 60,6% receberam quimioterapia ($n = 238$) e 60,3%, terapia hormonal ($n = 237$). Constatou-se amplo uso de hormonioterapia entre as pacientes com os subtipos luminais (A: 88,2%; B-HER2 negativo: 84,8%; e B-HER2 positivo: 76,7%), sendo tal uso verificado em percentuais mínimos entre os subtipos HER2 amplificado e

triplo negativo (0,4% e 1,7%, respectivamente) ($p = 0,000$). Entre os subtipos, verificaram-se maiores percentuais de uso de quimioterapia nos casos classificados como triplo negativo (78,7%) e HER2 amplificado (70,8%), enquanto entre o subtipo luminal A, apenas 36,8% dos casos fizeram uso de tal terapêutica ($p = 0,000$). Entre os casos do subgrupo luminal B-HER2 positivo, 34,9% das pacientes não fizeram uso de quimioterapia. A radioterapia foi utilizada em 80,9% das pacientes, principalmente entre aquelas que apresentavam os subtipos HER2 superexpresso (95,0%) e luminal B-HER2 positivo (90,0%), que se encontravam nos subgrupos envolvidos com doença mais avançada ao diagnóstico (tumores $> 2,0$ cm e linfonodos comprometidos), em comparação com aquelas que não utilizaram essa terapêutica ($p = 0,01$).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Neste estudo foi identificada a distribuição dos subtipos imuno-histoquímicos em pacientes portadoras de câncer de mama atendidas na rede de saúde pública e privada de município de médio porte, polo de referência macrorregional em assistência oncológica da região sudeste do Brasil. De acordo com esse perfil, os subtipos imuno-histoquímicos com maiores frequências foram o luminal B-HER2 negativo (41,8%) e o triplo negativo (24,2%). Tal achado difere do observado em estudo realizado com 10.159 mulheres, a partir de dados de 12 registros de câncer de base hospitalar e populacional de vários países (América do Norte, Europa e Austrália), com período de referência dos casos de 1974 a 2005, que demonstrou o subtipo luminal A como o mais frequente, com percentual de cerca de 71,3%, seguido pelo subtipo triplo negativo (16%)⁴¹. Nesse último estudo não foi incluída a avaliação do índice de proliferação celular Ki67, tendo sido considerados para a classificação dos subtipos outros marcadores, tais como o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e citoqueratinas 5 e/ou 6. No presente estudo, entretanto, foi considerada a classificação proposta pelo Consenso de *St. Gallen* (2011), a qual estratificou os tumores luminais em: A, B-HER2 negativo e B-HER2 positivo, levando em consideração o ponto de corte de 14% para o índice de proliferação celular Ki67. No entanto, o índice de Ki67 foi considerado, neste estudo, como baixo para os casos com valor $< 10\%$ de imunopositividade e alto para aqueles com valor $\geq 10\%$, uma vez que, nessa população, esse marcador foi pontuado como nulo (sem imunomarcção), baixo (10% ou menor imunopositividade) ou alto ($> 10\%$ de células imunorreativas), com base no critério adotado na época do diagnóstico dos casos³⁸. Tal fato pode justificar, portanto, o percentual elevado de tumores classificados como luminal B-HER2 negativo neste estudo.

O subtipo triplo negativo, que na maioria dos estudos apresenta frequência entre 10% e 20%^{31,35,41,42}, foi identificado em quase um quarto da população estudada (24,2%).

Tabela 3 – Distribuição das características relacionadas à utilização dos serviços de saúde e tratamento, segundo subtipos de câncer de mama classificados pela imuno-histoquímica

Características	Luminal A	Luminal B HER2 negativo	Luminal B HER2 positivo	HER2	Triplo negativo	Total casos e %	p-valor
Serviço de saúde [#]							0,03
Privado	37	98	21	20	48	224	
Linha %	16,5	43,8	9,4	8,9	21,4	100	
Col %	54,4	59,0	48,8	83,3	50,0	56,4	
Público	31	68	22	4	48	173	
Linha %	17,9	39,3	12,7	2,3	27,7	100	
Col %	54,6	41,0	51,2	16,7	50,0	43,6	
Cirurgia [#]							0,2
Curativa	53	126	37	16	82	314	
Linha %	16,9	40,1	11,8	5,1	26,1	100	
Col %	80,3	79,2	90,2	72,7	86,3	82,0	
Diagnóstica	13	33	4	6	13	69	
Linha %	18,8	47,8	5,8	8,7	18,8	100	
Col %	19,7	20,8	9,8	23,7	13,7	18,0	
Hormonioterapia [#]							0,0000
Uso	60	139	33	1	4	237	
Linha %	25,3	58,6	13,9	0,4	1,7	100	
Col %	88,2	84,8	76,7	4,2	4,3	60,3	
Não uso	8	25	10	23	90	156	
Linha %	5,1	16,0	6,4	14,7	57,7	100	
Col %	11,8	15,2	23,3	95,8	95,7	39,7	
Quimioterapia*							0,0000
Uso	25	94	28	17	74	238	
Linha %	10,5	39,5	11,8	7,1	31,1	100	
Col %	36,8	57,3	65,1	70,8	78,7	60,6	
Não uso	43	70	15	7	20	155	
Linha %	27,7	45,2	9,7	4,5	12,9	100	
Col %	63,2	42,7	34,9	29,2	21,3	39,4	
Radioterapia [#]							0,01
Uso	57	116	36	19	69	297	
Linha %	19,2	39,1	12,1	6,4	23,2	100	
Col %	86,4	73,4	90,0	95,0	83,1	80,9	
Não uso	9	42	4	1	14	70	
Linha %	12,9	60,0	5,7	1,4	20,0	100	
Col %	13,6	26,6	10,0	5,0	16,1	19,1	

[#]Teste de Fisher; *teste de χ^2 . O total de casos de cada variável pode diferir devido à ocorrência de dados ignorados.

Esse subtipo exibiu percentuais maiores em pacientes mais jovens, com menos de 50 anos (40%) e de cor da pele não branca (39,7%). Esses achados são semelhantes ao observado em outros estudos, que têm mostrado, persistentemente, o predomínio de tumores triplo negativo entre as pacientes mais jovens da raça negra, além de exibir doença mais avançada ao diagnóstico e com índices de

proliferação celular mais elevado^{35,43}. Em conjunto com o subtipo triplo negativo, os subgrupos HER2 amplificado e luminal B-HER2 positivo também exibiram, neste estudo, percentuais mais elevados de pacientes com cor da pele não branca e doença mais avançada inicialmente. Cabe destacar que os subtipos que expressam HER2 são fortemente influenciados pelo estado proliferativo do tumor,

que tende a ser mais elevado nesses subgrupos⁴⁴, o que pode justificar suas associações com tumores com comportamentos mais agressivos.

O tipo histológico predominante foi o ductal infiltrante (73,5%), dado semelhante ao de outros estudos realizados para avaliar sobrevida em mulheres com câncer de mama no país⁴⁵⁻⁴⁸. A idade média ao diagnóstico foi de 57,4 anos, dado similar ao observado em estudo conduzido por Blows *et al.*⁴¹, no qual foi verificada maior frequência da doença entre mulheres com 50 e 59 anos de idade para todos os subtipos, porém um pouco maior que a idade média encontrada em outros estudos brasileiros^{47,48}, que foi, respectivamente, de 54,0 e 56,4 anos. Kwan *et al.*⁴⁹ verificaram maior frequência de mulheres mais jovens no subtipo triplo negativo, achado similar ao encontrado neste estudo, no qual foi identificado percentual de 35,8% na faixa etária entre 40 e 49 anos.

A grande maioria das mulheres apresentava cor da pele branca (80,7%), com maior frequência entre todos os subtipos. A raça negra, em geral, está associada ao pior prognóstico da doença, quando comparada a outros grupos étnicos-raciais⁵⁰. Verificamos maior percentual de cor da pele não branca no subtipo triplo negativo (39,7%), que se mostrou relacionado à doença mais avançada inicialmente, o que pode refletir, para essas mulheres, o diagnóstico tardio e o acesso dificultado aos serviços de saúde. Tal achado pode representar também uma maior gravidade desses tumores dado o seu fenótipo. Deve-se levar em conta, entretanto, a miscigenação existente em nossa população (se comparada com a população norte-americana, por exemplo), o que dificulta a caracterização precisa dessa variável e também a possibilidade de erro de classificação da cor da pele neste estudo, uma vez que a coleta dessa informação foi realizada a partir da percepção dos profissionais responsáveis pelo preenchimento da ficha de atendimento inicial.

Ressalte-se que nessa população que apresentava todos os marcadores selecionados para o estudo, 56,4% das mulheres foram atendidas pelo setor privado de saúde. Portanto, trata-se de uma população diferenciada no que se refere ao acesso ao serviço de saúde, em relação à população brasileira em geral. Para os subtipos HER2 superexpresso, luminal B-HER2 negativo e luminal A, a maioria das pacientes foi atendida pelo serviço privado de saúde (83,3%, 59,0% e 54,4%, respectivamente). Destaca-se também que, entre as pacientes que foram atendidas no serviço público de saúde, 5,6% possuíam plano privado de assistência em saúde. Foi verificada maior frequência de tumores < 2,0 cm (65,8%) e ausência de comprometimento linfonodal (62,8%) nas pacientes atendidas no serviço de saúde de natureza privada, enquanto os maiores percentuais de tumores > 2,0 cm e linfonodos positivos foram identificados na rede pública de saúde (66,3 % e 50,6%, respectivamente; $p = 0,003$ e $p = 0,002$). Em estudo

de sobrevida realizado por Guerra⁵¹ em coorte hospitalar de mulheres com câncer de mama assistidas no mesmo município, foi observada maior frequência de pacientes que possuíam plano de assistência privada e que tinham sido atendidas por serviço de saúde de natureza pública (37,7%). No entanto, foi ressaltado, nesse último estudo, um maior risco de óbito por câncer de mama naquelas mulheres sem plano privado de saúde, o que foi relacionado ao diagnóstico mais tardio e à dificuldade de acesso ao tratamento específico, em conformidade com o observado na coorte do presente estudo quanto à natureza do serviço de saúde utilizado.

Observam-se, para os países em desenvolvimento, taxas de incidência de câncer em geral, considerando todas as localizações, menores (cerca de metade) do que aquelas observadas em países desenvolvidos. Entretanto, as taxas de mortalidade tendem a ser semelhantes nesses países³, o que pode ser resultado de um maior risco de óbito nos países em desenvolvimento, provavelmente em decorrência de uma combinação de fatores de risco existentes nesses últimos países, como diagnóstico realizado em fase tardia e acesso limitado aos métodos diagnósticos e ao tratamento padronizado^{3,10}. Muito embora o nível socioeconômico da população de estudo possa ser considerado como elevado em relação à população brasileira em geral, ainda predominaram tumores > 2,0 cm e axilas positivas, reforçando a necessidade de políticas públicas de saúde direcionadas à consolidação do programa nacional de rastreamento do câncer de mama, especialmente para o grupo de mulheres considerado como de maior risco, bem como a garantia de tratamento oportuno para os casos diagnosticados.

Cabe ressaltar que o percentual elevado do subtipo luminal B-HER2 negativo verificado nesta coorte pode estar relacionado à provável inclusão de percentual desconhecido de tumores que deveriam ser classificados como luminiais A, segundo classificação anterior a do Consenso de *St. Gallen* (2011). Sendo assim, a utilização da classificação proposta pelo referido Consenso, neste estudo, pode ter favorecido a combinação, na categoria luminal B-HER2 negativo, dos subtipos luminal B e luminal A, sendo este último subtipo frequentemente associado a um prognóstico mais favorável. Tal possibilidade deve ser levada em consideração na interpretação das diferenças observadas em relação ao subtipo luminal B-HER2 negativo.

Na interpretação dos dados relativos à distribuição da presença de metástases na população de estudo, entretanto, deve ser levada em consideração a possibilidade de subestimativa da metástase ao diagnóstico, uma vez que não foi possível acessar os exames de estadiamento para todos os casos. Nesse sentido, vale enfatizar também que não foi observada diferença significativa na distribuição da presença de metástases (ao diagnóstico e no curso da doença) na população de estudo, segundo a natureza do serviço de saúde (público *versus* privado).

Finalmente, deve-se considerar que, neste estudo, os dados imuno-histoquímicos foram obtidos por laudos constantes dos arquivos médicos, não tendo sido realizadas revisões de exames, o que pode prejudicar a confiabilidade das informações. Entretanto, vale notar que todos os serviços de anatomia patológica responsáveis pela avaliação do painel imuno-histoquímico na população de estudo exibiam reconhecida qualidade técnica, encontravam-se credenciados e prestavam atendimento concomitantemente às redes pública e privada. Tais constatações reforçam a qualidade destes dados e minimizam um possível erro diferencial relacionado à natureza dos serviços de saúde.

A realização desta pesquisa possibilitou a caracterização dos subgrupos imuno-histoquímicos em pacientes portadoras de câncer de mama atendidas em polo de referência em assistência oncológica da região sudeste do Brasil, por meio da utilização de classificação imuno-histoquímica recentemente atualizada³⁰. Permitiu, ainda, a avaliação da distribuição desses subgrupos em relação às principais características clinicopatológicas e aquelas relacionadas ao uso dos serviços de saúde. Nesse sentido, vale lembrar que a associação entre o diagnóstico histológico e a técnica imuno-histoquímica pode ajudar na determinação do perfil fenotípico do carcinoma de mama, com vistas a orientar o tratamento e, conseqüentemente, alcançar uma melhor resposta terapêutica.

Percebe-se, portanto, a necessidade de maior utilização das informações disponíveis nos serviços de saúde responsáveis pelo atendimento ao paciente com câncer no Brasil, com a finalidade de produção de conhecimento que possa auxiliar o melhor enfrentamento desse agravo à saúde dentro da nossa realidade.

REFERÊNCIAS

- GLOBOCAN 2008: Cancer incidence and mortality worldwide in 2008 - IARC. [citado 8 julho 2011]. Disponível em: <http://globocan.iarc.fr/>.
- Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010;127(12):2893-917.
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2011;61(2):69-90.
- Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin*. 2010;60(5):277-300.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil. [citado 18 maio 2011]. Rio de Janeiro: INCA; 2010. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2010/versaofinal.pdf>.
- Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Câncer no Brasil: dados dos registros de base populacional. v. IV. [citado 15 jul 2011]. Rio de Janeiro: INCA; 2010. Disponível em: <http://www.inca.gov.br>.
- Schmidt MI, Duncan BB, Azevedo e Silva G, Menezes AM, Monteiro CA, Barreto SM *et al*. Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: carga e desafios atuais. In: *The Lancet - Saúde no Brasil*. [citado 20 jul 2011]. Disponível em: <http://www.thelancet.com/series/health-in-brazil>.
- Guerra MR, Gallo CVM, Azevedo e Silva G. Risco de câncer no Brasil: tendências e estudos epidemiológicos mais recentes. *Rev Bras Cancerol*. 2005;51(3):227-34.
- Ministério da Saúde. Informações de Saúde. Estatísticas vitais. 2011. [citado 16 jul 2011]. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br>.
- Azevedo e Silva G, Bustamante-Teixeira MT, Guerra MR, Moura L. Tendências e controle do câncer e os 20 anos do Sistema Único de Saúde no Brasil. In: Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. *Saúde Brasil 2008: 20 anos do Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil*. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2009. pp. 365-84.
- Sorlie T. Molecular portraits of breast cancer: tumors subtypes as distinct disease entities. *Eur J Cancer*. 2004;40(18):2667-75.
- 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.
- Viale G. Pathological work up of the primary tumor: Getting the proper information out of it. *Breast*. 2011;20(Suppl 3):S82-6.
- Acs G, Paragh G, Rakosy Z, Laronga C, Zhang PJ. The extent of retraction clefts correlates with lymphatic vessel density and VEGF-C expression and predicts nodal metastasis and poor prognosis in early-stage breast carcinoma. *Mod Pathol*. 2012;25(2):163-77.
- Duda-Szymanska J, Sporny S. The practical value of breast cancer molecular classification. *Pol Merkur Lekarski*. 2011;31(181):5-8.
- Putti TC, El-Rehim DM, Rakha EA, Paish CE, Lee AH, Pinder SE *et al*. Estrogen receptor-negative breast carcinomas: a review of morphology and immunophenotypical analysis. *Mod Pathol*. 2005;18(1):26-35.
- Amendola LCB, Vieira R. A contribuição dos genes BRCA na predisposição hereditária ao câncer de mama. *Rev Bras Cancerol*. 2005;51(4):325-30.
- Hanahan D, Weinberg RA. The hall marks of cancer. *Cell*. 2000;100(1):57-70.
- 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. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134(6):907-22.
- Salles MA, Cúrcio VS, Perez AA, Gomes DS, Gobbi H. Contribuição da imuno-histoquímica na avaliação de fatores prognósticos e preditivos do câncer de mama e no diagnóstico de lesões mamárias. *J Bras Patol Med Lab*. 2009;45(3):213-22.
- Karger S, Freiburg GH. Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. *Breast Care (Basel)*. 2010;5(3):185-7.
- Carlos S, Vallejos HL, Gómez WR. Cruz. Clinical breast cancer. 2010;10(4):294-300.
- Lloyd MC, Allam-Nandyala P, Purohit CN, Burke N, Coppla D, Bull MM. Using image analysis as a tool for assessment of prognostic and predictive biomarkers for breast cancer: How reliable is it? *J Pathol Inform*. 2010;1:29.
- Dowsett M, Houghton J, Iden C, Salter J, Farndon J, Ahern R *et al*. Benefit from adjuvant tamoxifen therapy in primary breast cancer patients according to estrogen receptor, progesterone receptor, EGF receptor and HER2 status. *Ann Oncol* 2006;17(5):818-26.
- Perez EA, Romond EH, Suman VJ, Jeong JH, Davidson NE, Geyer CE Jr, *et al*. Four-year follow-up of trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: joint analysis of data from NCCTG N9831 and NSABP B-31. *J Clin Oncol*. 2011;29(25):3366-73.
- Piccant-Gehbart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I *et al*. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2005; 353(16):1659-72.
- Guarneri V, Frassoldati A, Bruzzi P, Belfiglio M, Molino A, Bertetto O *et al*. Multicentric, randomized phase III trial of two different adjuvant chemotherapy regimens plus three versus twelve months of trastuzumab in patients with HER2-positive breast cancer (Short-HER Trial; NCT00629278) *Clin Breast Cancer*. 2008;8(5):453-56.
- Simon R, Mirlacher M, Sauter G. Tissue microarrays in cancer diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn*. 2003;3(4):421-30.
- Sorlie T, Wang Y, Xiao C, Johnsen H, Naume B, Samaha RR *et al*. Distinct molecular mechanisms underlying clinically relevant subtypes of breast cancer: gene expression analyses across three different platforms. *BMC Genomics*. 2006;7:127.
- Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ *et al*. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer, 2011. *Ann Oncol*. 2011;22(8):1736-47.
- Voduc KD, Cheang MCU, Tyldesley S. Breast cancer subtypes and risk of local and regional relapse. *J Clin Oncol*. 2010;28(10):1684-91.
- Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WN, Kahn HK, Sawka CA *et al*. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res*. 2007;13(15 Pt 1):4429-34.
- Kreike B, van Kouwenhove M, Horlings H, Peterse H, Bartelink H, van de Vijver MJ. Gene expression profiling and histopathological characterization of triple-negative/basal-like breast carcinomas. *Breast Cancer Res*. 2007;9(5):R65.
- Perou CM. Molecular stratification of triple-negative breast cancers. *The Oncologist*. 2011;16(Suppl 1):61-70.
- Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, Karaca G *et al*. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA*. 2006;295(21):2492-502.
- Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry. *Cancer*. 2007;109(9):1721-8.

37. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F *et al.* The triple negative paradox: primary tumor chemo sensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res.* 2007;13(8):2329-34.
38. Tan PH, Bay BH, Yip G, Selvarajan S, Tan P, Wu J *et al.* Immunohistochemical detection of Ki67 in breast cancer correlates with transcriptional regulation of genes related to apoptosis and cell death. *Mod Pathol.* 2005;18(3):374-81.
39. Anderson WF, Jatoi I, Devesa SS. Distinct breast cancer incidence and prognostic patterns in the NCI's SEER program: suggesting a possible link between etiology and outcome. *Breast Cancer Res Treat.* 2005;90(2):127-37.
40. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C, editors. *TNM Classification of Malignant Tumours.* 7th ed. International Union Against Cancer - UICC: Wiley-Blackwell; 2009.
41. Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, Broeks A, van Leeuwen FE, Wesseling J *et al.* Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *Plos Med.* 2010;7(5):e1000279.
42. Cassol L, Silveira Graudenz M, Zelmanowicz A, Cancela A, Werutsky G, Rovere RK *et al.* Basal-like immunophenotype markers and prognosis in early breast cancer. *Tumori.* 2010;96(6):966-70.
43. Corrêa PB, Toralles MBP, Abe-Sandes K, Machado TMB, Bonfim TM. Câncer de mama triplo negativo e sua associação com ancestralidade africana. *Rev Ci Méd Biol.* 2010;9(Supl1):3-7.
44. Kaufmann M, Puzstai L. Use of standard markers and incorporation of molecular markers into breast cancer therapy: consensus recommendations from an International Expert Panel. *Cancer.* 2011;117(8):1575-82.
45. Azevedo e Silva G, Silva AM, Caula WM. Características tumorais e sobrevida de cinco anos em pacientes com câncer de mama admitidas no Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saúde Pública.* 2004;20(5):1232-9.
46. Brito C, Portela MC, De Vasconcelos MTL. Assistência oncológica pelo SUS a mulheres com câncer de mama no Estado do Rio de Janeiro. *Rev Saúde Pública.* 2005;39(6):874-81.
47. De Moraes AB, Zanini RR, Turchiello MS. Estudo da sobrevida de pacientes com câncer de mama atendidas no hospital da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad Saúde Pública* 2006;22(10):2219-28.
48. Guerra MR, Gulnar ASM, Bustamante-Teixeira MT. Sobrevida de cinco anos e fatores 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.
49. Kwan ML, Kushi LH, Weltzien E, Maring B, Kutner SE, Fulton RS *et al.* Epidemiology of breast cancer subtypes in two prospective cohort studies of breast cancer survivors. *Breast Cancer Res.* 2009;11(3):R31.
50. Field TS, Buist DSM, Doubeni C, Enger S, Fouayzi H, Hart G *et al.* Disparities and survival among breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2005;(35):88-95.
51. Guerra MR. Sobrevida e fatores prognósticos para o câncer de mama em Juiz de Fora, Minas Gerais, na coorte diagnosticada entre 1998 e 2000 [tese]. Rio de Janeiro: Instituto de Medicina Social, Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 2007.