

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

FACULDADE DE MEDICINA

Homero Gonçalves Júnior

Aspectos Clínico-epidemiológicos dos Tumores Mamários
Triplo Negativos em uma População Brasileira

Juiz de Fora, Minas Gerais

2018

Homero Gonçalves Júnior

Aspectos Clínico-epidemiológicos dos Tumores Mamários
Triplo Negativos em uma População Brasileira

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Saúde

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Teresa Bustamante Teixeira

Coorientador: Prof. Dr. Maximiliano Ribeiro Guerra

Juiz de Fora – MG

2018

Homero Gonçalves Júnior

Aspectos Clínico-epidemiológicos dos Tumores Mamários
Triplo Negativos em uma População Brasileira

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Saúde, área de concentração: Saúde Brasileira

Aprovado em: ----- / ----- /-----

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Maria Teresa Bustamante Teixeira – Orientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr Maximiliano Ribeiro Guerra - Coorientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^a. Dr^a. Gulnar Azevedo e Silva
Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Geraldo Sérgio Farinazzo Vitral
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. João Carlos Arantes Júnior
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^a. Dr^a. Jane Rocha Duarte Cintra
Universidade Presidente Antônio Carlos, Juiz de Fora

Aos meus filhos: Bárbara, Homero, Thaís e Giulia, razões únicas de minha vaidade; à Ana Lúcia minha mulher, presença mais que amiga; e à minha mãe Renée, pelos créditos e estímulos incondicionais.

“In memoriam”:

À Tereza Christina, minha irmã

Que soube honrar o sofrimento.

E ensinar o valor de cada dia, a ser vivido.

Melhores mãos descrevam a sua coragem;

Às minhas, cabe apenas aplaudir...

(Outubro de 2016)

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Professora Dr^a Maria Teresa Bustamante Teixeira, pela amizade demonstrada; pelos ensinamentos com que vem me premiando; e pelo persistente estímulo. Em todas as etapas do Curso de Doutorado tem estado presente, e sem a sua ajuda eu não chegaria a esta etapa de minha vida acadêmica.

Ao Professor Dr. Maximiliano Ribeiro Guerra, coorientador desta tese, igualmente amigo e parceiro nas muitas e muitas horas de trabalho. Pela paciência e conhecimentos inestimáveis, durante todo o tempo de confecção da mesma.

Às professoras: Dr^a. Gulnar Azevedo e Silva e Dr^a. Jane Rocha Duarte Cintra, e aos professores: Dr Geraldo Sérgio Farinazzo Vitral e Dr João Carlos Arantes Júnior, que gentilmente concordaram, em duas diferentes ocasiões, a avaliar essa tese, e a participar das bancas de qualificação e de defesa. Muito obrigado pelo desprendimento, e perdoem o árduo trabalho que lhes impus. As sugestões e correções sugeridas já na qualificação, foram todas consideradas e, quase na sua completude efetivadas; não na totalidade porque eventualmente eram divergentes, mas valorizadas ao limite do possível. Novas correções se impõem, o que aguardamos com respeitosa expectativa, certos da acurácia e do fito construtivo das mesmas.

À colega doutoranda Vivian Assis Fayer, e ao aluno e amigo, Igor Vilela Brum, pela ajuda na redação do primeiro artigo a ser publicado, que demandou muitas correções, e indispensáveis aprimoramentos.

Ao colega e amigo Mário Círio Nogueira, que dividiu comigo muitos momentos de estudo nas disciplinas do Programa de Pós-Graduação em Saúde, e logo demonstrou ampla capacidade e domínio na área de epidemiologia; por essas

oportunidades de crescimento profissional e técnico a mim proporcionadas, e pela ajuda em muitos tópicos desse trabalho.

Ao professor Francisco Zacaron Werneck, pelas orientações e auxílio nos cálculos estatísticos e discussões correlatas; as quais muito acrescentaram a este trabalho.

Ao amigo Marcel Tadeu Corrêa Ribeiro, que me prestou grande ajuda na confecção de tabelas, figuras, gráficos e na formatação deste documento.

Aos colegas do grupo de pesquisa do NATES, pelas sugestões, correções e apoio, nas reuniões de discussão e orientação conjunta.

À Faculdade de Medicina da UFJF que através do Programa de Pós-Graduação em Saúde (PPGS) me proporcionou essa notável oportunidade de evolução científica e profissional.

Ao NATES (Núcleo de Assessoria Treinamento e Estudos em Saúde) e a todo seu pessoal, por transformar em fato, o mérito que acima mencionei.

Ao Instituto Oncológico de Juiz de Fora e Hospital 9 de Julho, cenários de atuações e aprimoramentos profissionais; bem como de estudos e pesquisa científica.

“Procuremos como procuram aqueles que devem encontrar, e encontremos como encontram aqueles que devem continuar procurando; pois está escrito: aquele que chegou ao fim não fez senão começar.”

Sto. Agostinho – De Ord. II.19.

RESUMO

O tratamento do câncer de mama baseia-se na classificação dos casos, em termos de estadiamento e do perfil biomolecular. Os Tumores Triplo Negativos (TTN) representam um grupo especial de neoplasias mamárias que não expressam receptores hormonais e nem o antígeno Her2. São considerados agressivos e de pior evolução, e quando estudados em particular, apresentam muita heterogeneidade. Importa saber se a caracterização dos tumores como Triplo Negativos, é suficiente para delimitar o grupo em termos de prognóstico e terapêutica. Este estudo teve como objetivo comparar os aspectos clínico-epidemiológicos dos Tumores Triplo Negativos em relação aos Não Triplo Negativos, em coorte de mulheres com câncer de mama assistidas em centros oncológicos de referência de Juiz de Fora, Minas Gerais. A sobrevida global e a sobrevida livre de doença foram calculadas pelo método de Kaplan Meier, e as curvas de sobrevida foram avaliadas pelo teste de Log-Rank, nos subgrupos Triplo Negativos e Não Triplo Negativos (NTN). Os fatores prognósticos foram comparados pelo modelo de riscos proporcionais de Cox. Os Tumores Triplo Negativos apresentaram diferenças demográficas em relação aos NTN, com acúmulo de pacientes não brancas e de baixo nível sociocultural; e ainda com aspectos de maior gravidade ao diagnóstico. A evolução também foi pior, tanto em termos de sobrevida global quanto sobrevida livre de doença dentre os TTN. Na análise univariada, os fatores: idade, cor da pele, escolaridade, tamanho do tumor e grau tumoral, estado das axilas e estadiamento, bem como taxas elevadas dos marcadores P53 e Ki 67, se mostraram associados a sobrevida livre de doença nos Tumores Não Triplo Negativos. No cálculo da sobrevida global, essas variáveis se mantiveram, exceto a idade; e foi constatado maior risco para as mulheres oriundas do serviço público de saúde, bem como o surgimento de metástases no decurso do seguimento. Para os Triplo Negativos, a análise univariada mostrou influência do estado axilar e estadiamento na sobrevida livre de doença; e os mesmos fatores acrescidos do surgimento de metástases, para a sobrevida global. Na análise multivariada a escolaridade e o estado axilar representaram risco à sobrevida livre de doença para NTN, enquanto a cor da pele e o estadiamento para a sobrevida global. Quanto aos TTN, sua evolução se mostrou ligada a dois aspectos: o comprometimento axilar para sobrevida livre de doença e global; e também a multicentricidade para a sobrevida global. Os Tumores Triplo Negativos aparentam ter biologia bem diversa dos Não

Triplo Negativos, na dependência dos componentes histológicos e moleculares que portam. A classificação molecular por imunistoquímica se mostrou capaz de identificar os dois grupos tumorais e auxiliar na orientação terapêutica.

Palavras-chave: Tumores Triplo Negativos. Tumores Não Triplo Negativos. Classificações moleculares. Fatores Prognósticos Sobrevida livre de doença. Sobrevida Global.

ABSTRACT

Current breast cancer treatment is based on the classification of tumor stage and molecular profile. Triple-negative breast cancer (TNBC) is a specific subset of tumors characterized by the absence of hormone and HER2 receptors. Despite being usually associated with a more aggressive clinical course, there is high heterogeneity within TNBC. Therefore, it has been questioned whether current classification of TNBC is adequate enough to assess its prognosis and make therapeutic decisions. This study thus aimed to investigate to which extent TNBC profile classification was able to efficiently distinguish this tumor subtype from other subtypes of breast cancer. It was performed on a cohort of women with breast cancer treated at referral centers in Juiz de Fora, Southeastern Brazil. Overall and disease-free survival and prognostic factors were assessed and compared for TNBC and non-TNBC. Survival functions were calculated using the Kaplan-Meier method, and the log-rank test was used to compare the survival curves. Prognostic factors were analyzed by the Cox proportional hazards model. TNBC presented demographic differences compared to non-TNBC as it was more prevalent among nonwhite and less educated women. TNBC also presented at diagnosis with clinical parameters of advanced disease and had overall and disease-free survival significantly lower than non-TNBC. In univariate analysis the factors: age, color of the skin, education level, size and degree of tumor, axillary status and staging, as well as high rates of P53 e Ki 67 have been shown to be associated with disease-free survival in non-TNBC. These variables remained the same in the calculation of overall survival except for age; and it was also observed a greater risk for women from the public health service as well as the appearance of metastases during the follow-up. In multivariate analysis education level and axillary lymph node involvement presented a risk for disease-free survival while the color of skin and staging, for overall survival in non-TNBC. Regarding TNBC, its evolution was related to two aspects: axillary impairment for disease-free and global survival and multicentricity for overall survival. TNBC presents distinct biological properties compared to non-TNBC, which seems to be related to its specific histological and molecular components. The molecular classification by immunohistochemistry showed to be able to identify the two tumor groups and to support the therapeutic orientation.

Keywords: Triple-negative breast cancer. Non-Triple-negative breast cancer. Disease-free survival. Overall survival. Prognostic Factors.

LISTA DE SIGLAS

- AA: "African Americans"
- ABCCSG: "Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group".
- AC + T: Antraciclina + Ciclofosfamida + Taxanes.
- AC: Antraciclina + Ciclofosfamida.
- ACC: "Acinar Cell Carcinomas".
- ACS: "American Cancer Society".
- AJCC: "American Joint Committee on Cancer".
- AJCCS: "American Joint Committee on Cancer Staging".
- AMGA: Adenose microglandular atípica
- ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- ASCO: "American Society of Clinical Oncology".
- ATAC: "Arimidex / Tamoxifen Alone or in combination"
- ATS: Avaliação de Tecnologias em Saúde.
- B4: Marcador de fibra muscular lisa.
- BLT: "Basal-like tumors".
- BRCA 1 e 2: Genes supressores do câncer de mama 1 e 2.
- CAR: "Chimeric antigen receptors".
- CAZ: "Central Acellular Zone".
- CBCS: "Carolina Breast Cancer Study".
- CD 10: Antígeno de superfície CD 10.
- CDC: "Control Disease Center".
- cDNA: DNA complementar (Técnica de classificação genética).
- CK: Citoqueratinas.
- DALY: "Disability Adjusted Life of Years".
- DMBA: Dimetilbenzoantraceno.
- DNA: Ácido Desoxirribonucleico.
- DOI: "Digital Object Identifier".
- EGAPP: "Evaluation of Genomic Application in Practice and Prevention".
- EGF: "Epithelial Growth Factors".
- EGFR: "Epithelial Growth Factors Receptors" .
- ESA: "Epithelial Specific Antigen".

EUA: Estados Unidos da América.
FDA: "Food and Drug Administration".
FGF: Fibroblast Growth Factors".
FISH: "Fluorescence In Situ Hybridization"
GBD: "Global Burden Disease".
HCG: Gonadotrofina coriônica.
HR: "Hazard Ratios".
HT: Hormonioterapia do câncer
IARC: "International Agency for Research on Cancer".
IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
IC: Índice de Confiança.
ICR: "Immune checkpoint receptors".
IDH: Índice de Desenvolvimento Humano.
IGFI: "Insulin Growth Factor 1".
IHC: Imunoistoquímica¹.
IMC: Índice de Massa Corporal.
INCA: Instituto Nacional do Câncer.
JAMA: "Journal of American Medical Association".
MCS: Multiethnic Cohort Study".
MGA: Microglandular Adenosis".
MHC 1, 2: "Major Histocompatibility Complex" 1, 2
mRNA: RNA mensageiro.
MS: Ministério da Saúde do Brasil.
MUC 1: Marcador de mucina.
NATES: Núcleo de Assessoria Treinamento e Estudos em Saúde da UFJF.
NCDB: "National Cancer Database".
NGF: "Nerve Growth Factors".
NPI: "Nottingham Prognostic Index".
NSABP: "National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project".
NTN: Tumores Não Triplo Negativos.

¹ A palavra imunoistoquímica advém da junção dos vocábulos "imuno" + "histoquímica" e pode ser grafada com o hífen e o "h" no interior, assim como "anti-hemorrágicos" ou "pré-história". Entretanto como histoquímica já é uma associação, o mais correto parece ser a fusão do termo imuno-histoquímica em uma única palavra, e nesse caso desaparece o "h" (Shirley Gomes, 1998. www.jbn.org.br/export-pdf/679/20-04-34.doc). Para efeito de sigla, será mantida a forma mais utilizada nos periódicos: IHC.

OMS: Organização Mundial de Saúde.
PARP: Poli Adp Ribose Polimerase.
PD 1: "Programmed Cell Death 1".
PHQ: Perfil imunohistoquímico.
PIK 3: "Phosphatidilinositol 3-kinase".
PRB: Gene das proteínas RB
PTEN: Gene da "Phosphatase and Tensin homolog".
QT: Quimioterapia.
QTA: Quimioterapia adjuvante.
RE: Receptores de Estrogênio.
RH: Receptores Hormonais
RNA: Ácido Ribonucleico.
ROR: "Risk Of Recurrence".
RP: Receptores de Progesterona.
RPC: Resposta Patológica Completa.
SEER: Surveillance Epidemiology and End Results".
SG: Sobrevida Global.
SIM: Sistema de Informações sobre Mortalidade.
SISCAN: Sistema de informações sobre câncer.
SISMAMA: Sistema de informações sobre câncer de mama.
SLD: Sobrevida Livre de Doença.
SMA: Actina de musculatura lisa
SUS: Sistema Único de Saúde.
TA: Terapias-alvo.
TEM: Transição Epitélio-Mesenquimal.
TGF: "Terminal Growth Factors".
TGF α : "Terminal Growth Factors α ".
TGF β : "Terminal Growth Factors β ".
TH: Terapia Hormonal
TMX: Tamoxifeno
TNBC "Triple-Negative Breast Cancer"
TNM: Sistema de classificação do câncer de mama
TTN: Tumores Triplo Negativos

UFJF: Universidade Federal de Juiz de Fora

UICC: União Internacional contra o Câncer

UK: "United Kingdom"

USA: "United States of América"

UTDL: Unidade Terminal Ducto-Lobular

VEGF: "Vascular Epithelial Growth Factors"

YLD: "Years Lived with Disability".

YLL: "Years of Life Lost".

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Distribuição dos subtipos tumorais nas regiões brasileiras.....	34
Figura 2 Epitélio mamário normal.....	50
Figura 3 Células mioepiteliais em lóbulos normais.....	57
Figura 4 Carcinoma intraductal.....	62
Figura 5 Carcinoma invasivo.....	63
Figura 6 Fluxograma da seleção de pacientes.....	96
Figura 7 Curvas de sobrevida global: TTN x NTN.....	105
Figura 8 Curvas de sobrevida livre de doença: TTN x NTN.....	106
Figura 9 Gráfico comparativo de recorrências.....	107
Figura 10 Gráfico comparativo de sobrevidas globais.....	107
Figura 11 Curvas de sobrevida em relação à comprometimento axilar.....	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Distribuição das variáveis na população estudada	103
Tabela 2 Riscos proporcionais de Cox para sobrevida livre de doença	108
Tabela 3 Riscos proporcionais de Cox para sobrevida global	109
Tabela 4 Análise multivariada para sobrevida livre de doença e sobrevida global ..	110

SUMARIO

APRESENTAÇÃO	
1	INTRODUÇÃO 22
1.1	Dimensionando o problema; programas de controle 22
1.2	Aspectos étnicos e socioeconômicos ligados ao câncer de mama 24
1.3	Influência dos aspectos socioeconômicos no câncer de mama no Brasil 30
1.4	Questões envolvidas na classificação do câncer de mama 33
1.4.1	A Heterogeneidade Tumoral 33
1.4.2	Limitações do Sistema TNM 35
1.5	As Classificações moleculares 36
1.5.1	Estudos dos genomas celulares e aplicações na prática clínica 36
1.5.2	A imunistoquímica e a identificação de antígenos celulares 40
1.6	Controvérsias nas classificações moleculares 44
1.7	Tumores Triplo Negativos 48
1.7.1	As Células da Mama: desenvolvimento normal 48
1.7.2	A mama nas Diferentes Fases da Vida Feminina 51
1.7.3	Distúrbios da Diferenciação e Predisposição a Neoplasias 52
1.7.4	Importância da Gravidez e Amamentação 53
1.7.5	As células basais e improváveis correlações com os TTN 55
1.7.6	As células-tronco tumorais e a formação de tumores mamários 59
1.7.7	Tumores Triplo Negativo, e correlação com tumores basais 64
1.7.8	Subdivisão dos Triplo negativos 66
1.8	Propostas Terapêuticas para os Tumores Triplo Negativos 71
1.8.1	Os TTN e as categorias de risco 71
1.8.2	Tratamento Loco - Regional 74
1.8.3	Tratamentos Sistêmicos 76
1.8.4	Neoadjuvância em Triplo Negativos 79
1.8.5	Ensaio com Tratamentos - Alvo 82
1.8.6	Letalidade sintética e interação de drogas 84
1.8.7	Imunoterapias em TTN 86

2	JUSTIFICATIVA	90
3	OBJETIVOS	91
4	METODOLOGIA	91
4.1	Tipo de estudo	91
4.2	Obtenção dos dados	91
4.3	Seleção das pacientes	92
4.4	Análises de Imunoistoquímica	95
4.5	Variáveis analisadas	97
4.6	Seguimento das pacientes	99
4.7	Análise estatística	99
5	RESULTADOS	100
5.1	Aspectos demográficos e clínico patológicos	100
5.2	Tratamento e evolução	101
5.3	Fatores Prognósticos	101
6	DISCUSSÃO	112
6.1	As pacientes e seus tumores	112
6.2	Resposta aos tratamentos, evolução e fatores prognósticos	116
6.3	Considerações	118
7	CONCLUSÕES	119
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
	ANEXO I ("Survival study of triple-negative and non-triple-negative breast cancer in a Brazilian cohort")	

APRESENTAÇÃO

O câncer da mama continua a desafiar cirurgiões e oncologistas, na medida que se mantém muito frequente e impõe restrições ao sucesso terapêutico. As estimativas para o ano de 2018 no Brasil, apontam para a ocorrência de 59.700 novos casos, com incidência ajustada de 63,98 ocorrências por cem mil mulheres / ano, nas capitais do país. Na região sudeste deverão ocorrer 30.880 novos casos, no decurso de 2018. Além disso, a taxa de mortalidade ajustada para a população mundial, continua em curva ascendente, e atingiu a 13,03 óbitos / 100 mil mulheres em 2014 (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA, INCA 2018).

É a primeira causa de morte por câncer na mulher brasileira (INCA,2018), o que nos é facilmente perceptível, já que no dia a dia dos ambulatórios e salas de cirurgia, convivemos com inúmeros casos, muitos dos quais respondem de forma insatisfatória aos tratamentos e evoluem para situações de maior gravidade, imprevistas quando da abordagem inicial. Terapias adjuvantes e principalmente a quimioterapia, permitiram ganhos indiscutíveis, reduzindo as recorrências e aumentando a sobrevida, mas pairam dúvidas quanto à sua indicação em pacientes com tumores pequenos e sem comprometimento axilar.

As classificações genéticas e moleculares trouxeram avanços ao adicionarem informações do microambiente tumoral aos dados anatômicos classicamente fornecidos pelo sistema TNM; e ao permitirem o desenvolvimento de terapias-alvo, já disponíveis para alguns subtipos de câncer mamário. Dentro dos grupos taxonômicos propostos, estão os Tumores Triplo Negativos (TTN), nosso objeto de estudo. São tumores que tendem a acometer mulheres mais jovens e afrodescendentes, e a evoluir de forma mais agressiva, com recidivas precoces e menor sobrevida; não havendo ainda tratamentos específicos para os mesmos.

A cidade de Juiz de Fora é polo de saúde para vários municípios da Zona da Mata mineira e região leste do estado. Trabalhando num dos centros de referência em oncologia do município, testemunhamos o sofrimento diuturno de mulheres com câncer de mama, que buscam soluções para seu problema; muitas das quais não o conseguem, apesar da submissão à tratamentos prolongados e dolorosos. Muitos dos casos já chegam avançados ao primeiro atendimento, o que aponta para falhas na

prevenção e para a heterogeneidade da doença, já que muitos tumores surgem e evoluem rapidamente, burlando os esforços preventivos; fato agravado pelas limitações socioeconômicas, e questões demográficas de nossa população. O substrato etiopatogênico para essas variações reside em grande parte, nas diferentes evoluções dos perfis biológicos do câncer mamário, e a pergunta que nos motiva é saber se a classificação molecular dos Tumores Triplo Negativos é, por si só, suficiente para diferenciar esse grupo de doenças, em termos de prognóstico e indicações terapêuticas.

Participamos de um estudo de coorte de portadoras de câncer mamário, e nos dispusemos a uma análise dessa população; de suas características demográficas e socioculturais, bem como dos aspectos tumorais e resposta aos tratamentos. Dividimos as pacientes em dois grupos: as portadoras de Tumores Triplo Negativos (TTN), e as demais, reunidas sob a denominação: Não Triplo Negativos (NTN).

A comparação da evolução dos grupos, em termos de sobrevida livre de doença (SLD) e sobrevida global (SG), bem como dos fatores associados, possivelmente nos auxiliem a responder a essa questão, com o adicional de se investigarem mulheres brasileiras, tratadas e acompanhadas em nossa cidade.

A tese começa com informações teóricas sobre o assunto, contidas na introdução; que por sua vez, se inicia com dados sobre a magnitude da doença câncer de mama no mundo e no Brasil, onde programas de rastreamento e controle já se desenvolvem. Seguem-se as questões demográficas e socioeconômicas envolvidas na identificação e condução desses tumores, as quais, se por um lado são mais difíceis de se obter, por outro parecem fundamentais na abordagem da mulher brasileira. Procuramos principalmente sublinhar o polimorfismo do câncer de mama, as teorias que o expliquem, bem como a necessidade de classificações que permitam aos cirurgiões e oncologistas, selecionar grupos de pacientes razoavelmente homogêneos, passíveis de propostas terapêuticas específicas e bem indicadas. Para tal, a separação em Triplo Negativos (TTN) e Não Triplo Negativos (NTN) é fundamental.

O paralelo entre aspectos clínicos e biológicos enfatizado na introdução teve continuidade na análise dos dados da população de estudo. Houve um cuidado especial na seleção de pacientes, visando a constituição dos dois grupos, os mais

homogêneos possíveis, exceto na subtipagem molecular. Os resultados demonstraram diferenças na sobrevida global e sobrevida livre de doença dos grupos comparados, bem como a diversidade sociocultural nos mesmos.

Esta tese de doutorado está contida na linha de pesquisa em câncer, do Núcleo de Assessoria Treinamentos e Estudos em Saúde da universidade Federal de Juiz de Fora (NATES/UFJF). É parte de um conjunto de estudos, no caso, da “Coorte Hospitalar de Mulheres com Câncer de Mama Assistidas em Centros de Referência do Município de Juiz de Fora”; os quais englobam várias instituições locais: as Faculdades de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, e da Universidade Presidente Antônio Carlos; o Instituto Oncológico de Juiz de Fora e o Hospital 9 de Julho; e a Secretaria Municipal de Saúde. Esses trabalhos vêm agregando importantes informações a respeito do câncer de mama em nosso meio, e já forneceram dados para outras teses e dissertações, nenhuma das quais abrangendo especificamente os Tumores Triplo Negativos.

Um ensaio já publicado, intitulado “Survival study of triple-negative and non-triple-negative tumors in a Brazilian breast cancer cohort”, constitui parte e resumo desta tese; e está anexado integralmente ao final da mesma.

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Dimensionando o problema; programas de controle

As neoplasias malignas da mama constituem problemas de saúde pública em todo o mundo. Não obstante o declínio da incidência nos países desenvolvidos, há uma preocupação com a carga de doença² (“Global Burden Disease - GBD”) que continua aumentando; e a questão está longe de ser resolvida. Uma publicação do “Journal of American Medical Association, JAMA” de 2015, calcula que em 2013 ocorreram 1,8 milhões de casos novos no mundo, e 464.000 mortes. Representaram 13,1 milhões de anos de vida perdidos por incapacidade (“DALY”), 63% dos quais em nações em desenvolvimento como o Brasil, e 37% nas nações desenvolvidas (JAMA ONCOL, 2015). Considerando os mesmos aspectos, o mesmo periódico em 2017 reitera a morbiletalidade e os prejuízos impostos pela doença, atualizando os dados para o ano de 2015, em que teriam ocorrido 2,4 milhões de novos casos, 523.000 óbitos e 15,1 milhões de anos a serem vividos com incapacidades (JAMA ONCOL, 2017). No Brasil, a incidência continua aumentando, e excetuando-se os cânceres de pele não melanomas, o de mama é o que mais acomete as mulheres. As estimativas para o ano de 2018 atingem um total de 59.700 novos casos, cabendo à Região Sul a maior incidência: 73,7 / 100.000. Para Minas Gerais estima-se a taxa de 50.15 novos casos / ano, sendo que na capital, Belo Horizonte, 1.060 mulheres deverão ser diagnosticadas com a doença no ano de 2018 (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER - INCA, 2018).

Estratégias de controle vieram sendo implementadas no país de forma isolada no século passado. A partir de 1997/98, foram propostas ações sistemáticas e integradas, visando à redução da incidência, da morbidade e da mortalidade dos principais cânceres femininos: colo do útero e mama, dentro do “Projeto Viva Mulher”. Essa iniciativa evoluiu para um sistema nacional de monitoração das atividades de

² Carga de doença: (“Burden of Disease”): conceito que qualifica a perda de saúde decorrente de doenças, e que considera: o nº de anos de vida perdidos pela morte prematura (YLL “Years of Life Lost”) e o nº de anos vividos com limitações impostas pela doença (YLD “Years of Life Lived with Disability”). Permitem o cálculo do “DALY: Disability Adjusted Life Years” (OMS; Harvard School of Public Health; Banco Mundial, 1990)

detecção precoce do câncer mamário, denominado SISMAMA, criado em dezembro de 2008 pelo Ministério da Saúde e Instituto Nacional de Câncer (MINISTÉRIO DA SAÚDE. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. SISMAMA, 2010). A partir de março de 2011, esse programa foi englobado pelo Sistema de Informações de Câncer: SISCAN, que integra novamente as ações de vigilância e os dados dos cânceres de colo uterino e mama (MINISTÉRIO DA SAÚDE. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Sistema de Informações de Câncer, 2013)

Os programas contemplam: prevenção primária (redução dos fatores de risco), detecção precoce, tratamento, reabilitação e cuidados paliativos. Dois princípios norteiam essas ações: a medicina baseada em evidências, através da qual informações de natureza epidemiológica delimitam populações alvo a serem rastreadas, e as denominadas ATS: Avaliações de Tecnologias em Saúde, que definem os métodos de rastreio. O balanço entre benefícios e danos de cada recurso é esclarecido e, recomendado ou não, segundo sua eficácia. A partir dessa avaliação é que se concluiu pela realização sistemática e bienal de mamografias em mulheres nas faixas etárias de 50 a 59 anos, por benefícios equivalentes aos danos; e principalmente dos 60 aos 69 anos, em que os benefícios do rastreio superam os danos potenciais. (MINISTÉRIO DA SAÚDE; INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – Diretrizes Nacionais para a Detecção Precoce do Câncer da Mama, 2015).

Neste sentido, as ações sugeridas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) contemplam três premissas básicas: população alerta para os principais sinais e sintomas; profissionais capazes; e serviços preparados para efetuar o diagnóstico precoce e garantir qualidade em toda a linha de cuidados do câncer mamário. Nas publicações da OMS percebe-se a preocupação de se analisar os riscos e benefícios dos projetos de rastreio, que são úteis a uma parcela proporcionalmente reduzida, frente aos amplos contingentes submetidos aos mesmos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2007). São cuidados igualmente observados pelo Ministério da Saúde no Brasil, e que estão embasados em estudos de longa data. Já em 2004, Gray manifestava a necessidade de os programas de rastreio, denominados de prevenção secundária, estarem contidos na prevenção primária dos bons serviços de diagnóstico e tratamento. Seriam na realidade, partes dos programas de controle de doenças, e como tal, deveriam além de reconhecê-las em fases latentes ou iniciais, garantir o

tratamento para toda a população, a despeito dos custos do diagnóstico em si mesmo, das terapias, e da indispensável continuidade (GRAY, 2004).

Em países de dimensões continentais como o Brasil, a incidência do câncer de mama difere nas diversas regiões, e o risco de desenvolver os tumores também. A população deve dispor dessas informações e de como se utilizar adequadamente das ferramentas de rastreio, prevenção e tratamento. Tiezzi (2010) sugere investimentos em programas de informação e socioprevenção de forma globalizada; e a disponibilização de um sistema de rastreamento mamográfico mais abrangente e controlado, nas áreas de maior risco (TIEZZI, 2010).

1.2 - Aspectos étnicos e socioeconômicos ligados ao câncer de mama

Fatores socioeconômicos e étnicos são determinantes no surgimento e evolução do câncer. Estudos ecológicos³ mostram que em populações socialmente desfavorecidas, há maior incidência da doença, assim como maior proporção de diagnósticos tardios, mesmo em tumores passíveis de detecção precoce. E maiores dificuldades de acesso a cuidados adequados, com piores evoluções (RIBEIRO e NARDOCCI, 2013). Com relação ao câncer de mama, a incidência mostra uma associação positiva com os estratos mais ricos da população, e o inverso quando se observam as sobrevividas, tanto livres de doença quanto globais. A “International Agency for Research on Cancer” (IARC), estimou para o ano de 2012 a incidência média de 73,4/100000 nas regiões desenvolvidas do mundo, e 31,3/100.000 nos países mais pobres (IARC – GLOBOCAN, 2012).

A maior frequência do câncer de mama dentre mulheres mais ricas está relacionada aos fatores de risco prevalentes nessas classes sociais. Aspectos reprodutivos como a idade mais precoce das menarcas, menor paridade, idade mais tardia da primeira gestação e parto, bem como o uso do álcool, são mais frequentes nas classes economicamente privilegiadas, e demonstráveis nos estudos epidemiológicos. Associam-se, a predisposição familiar e a obesidade. Kwan e

³ Estudos ecológicos: estudos observacionais com informações obtidas e analisadas no nível do “agregado”. Focalizam a comparação de grupos, ao invés de indivíduos. A população ou um grupo de pessoas de uma área geográfica definida, é analisada num contexto social e ambiental (Saúde de grupos) “In: Estudos Ecológicos PROCC / Fiocruz; 30/5/2009

colaboradores (2009), em estudo de duas coortes prospectivas realizadas com pacientes do norte da Califórnia e de Utah, nos Estados Unidos, identificaram fatores de risco em aspectos demográficos e reprodutivos, associados ao estilo de vida, em grupos socialmente distintos. As afro-americanas e hispânicas tinham um número maior de filhos, e os tinham em idades mais precoces que as brancas; estas eram mais propensas ao consumo regular de álcool e tinham história familiar de câncer mais comum, bem como o relato frequente de tratamentos hormonais (TH). A obesidade foi mais comum nas AA. As asiáticas relatavam baixo uso do fumo e de hormônios para anticoncepção. O estudo demonstrou que diferentes subtipos tumorais estavam relacionados a esses fatores de risco, os quais por sua vez ligavam-se aos hábitos das populações (KWAN et al, 2009).

Akinyemiju e cols publicaram um estudo com 47.586 mulheres americanas portadoras de carcinoma de mama, diagnosticados no ano de 2010. As pacientes foram estratificadas com base na renda familiar, área de residência, classe ocupacional, nível de instrução, desemprego e pobreza. Compararam a incidência nos grupos de poder aquisitivo mais baixo aos superiores, ajustando as incidências por idade e para cada grupo étnico racial. A maior incidência do câncer de mama nos níveis sociais mais elevados ficou demonstrada, para tumores RH positivos e HER2 negativos, que representaram 73% do total (RR 1.32; IC 95%: 1,27 - 1,39). E para tumores RH positivos e HER2 positivos (RR 1,46; IC 95%: 1,27 - 1,68; p 0,01). Tanto em brancas, quanto negras e hispânicas. Entretanto tal não foi observado para tumores receptor hormonal negativos, o que levou os autores a sugerirem etiopatogenias diversas para os subtipos tumorais (AKINYEMIJU et al, 2015).

Em relação às evoluções, raça e etnia são relevantes. Carey e colaboradores (2006), publicaram dados do “Carolina Breast Cancer Study” (CBCS), demonstrando grandes diferenças na evolução do câncer de mama entre pacientes brancas e negras nos Estados Unidos. Relataram mortalidades ajustadas por idade, de 28,3 / 100.000 dentre brancas, e 36,4 / 100.000 dentre negras afro-americanas (AA). Em idades inferiores a 50 anos a diferença se acentuava, sendo 77% maior nas AA: 11 x 6,3 mortes / 100.000. Os tumores em negras se mostraram maiores ao diagnóstico condicionando estadiamentos mais avançados. E graus tumorais mais altos, com sobrevidas piores, mesmo se controlados os demais fatores. Apontaram causas

multifatoriais para esses achados, sendo que razões socioeconômicas representadas por diferenças no acesso ao rastreamento e tratamentos estariam associadas a questões biológicas, como a prevalência do fenótipo “basal-like” (BLT), dentre as AA. Importariam ainda o estilo de vida e padrões nutricionais. Os dados do CBCS tiveram importância especial, por alinharem aspectos biológicos do câncer de mama à determinantes sociais e étnicos, já anteriormente conhecidos. A prevalência dos tumores de linhagem basal dentre AA ficou evidente, sendo que 26% das mesmas apresentavam esses subtipos, que podiam atingir 39% quando em pacientes na pré – menopausa. Dentre as brancas a proporção não passou de 16%, independentemente da idade. O predomínio desses fenótipos mais agressivos de carcinoma mamário, como os Triplo Negativos basais, seria a explicação racial para as piores evoluções (CAREY et al, 2006).

Ampliando os estudos étnicos, Setiawan e cols (2009), publicaram os dados do “Multiethnic Cohort Study” realizado no Havaí e em Los Angeles, Califórnia; no qual 84.427 mulheres portadoras de câncer de mama de cinco etnias diferentes, foram acompanhadas por em média, 10,4 anos. A pesquisa foi centrada nos receptores hormonais (RH), que variaram muito nos cinco grupos. Tumores negativos para receptores de estrogênio (RE) e progesterona (RP), foram prevalentes dentre as afro-americanas: 31%; seguidas pelas latinas (25%) e, na sequência, brancas (18%), japonesas (14%) e havaianas nativas (14%). Foram cruzados dados relativos a aspectos demográficos e reprodutivos, além de dietéticos, genéticos e de hábitos de vida, com as frequências e evolução do carcinoma mamário. Os resultados demonstraram maior incidência de câncer de mama dentre as havaianas nativas, seguidas pelas japonesas, depois as brancas, afro-americanas e latinas. Taxas mais altas de incidência acompanharam não só os grupos raciais, mas também outros aspectos:

- Índices de massa corporal (IMC) mais elevados
- Idades mais precoces de menarca
- Primiparidade idosa
- Baixa paridade
- Casos familiares de câncer de mama em primeiro grau

- Consumo de álcool
- Terapias de reposição hormonal (TH)

A maior parte desses fatores relaciona-se com mecanismos hormonais. E, de fato, 66% das pacientes apresentavam tumores RE+ e RP+. Apenas 19% RE- e RP-. Conforme antes relatado, tumores receptor-positivos foram muito mais frequentes dentre mulheres brancas; e os receptor-negativos, dentre negras. O que parece explicar a maior frequência da doença entre as primeiras, e a maior gravidade nas últimas.

A maior gravidade ficou bem demonstrada nesse estudo, pelas taxas de mortalidade ajustadas por idade:

- Afro-Americanas: 82 / 100000
- Havaianas: 73 / 100000
- Brancas: 67 / 100000
- Latinas: 52 / 100000
- Japonesas: 41 / 100000

Portanto, taxas (elevadas) de mortalidade tendem a acompanhar a distribuição de tumores RH negativos, embora os demais aspectos citados também as influenciem. O predomínio desses tumores (RE-, RP-) dentre AA é a explicação aceita pelos autores, mas outras considerações foram feitas: latinas também apresentam altas taxas de tumores receptor-negativos, mas especificamente nessa coorte, tiveram mortalidades total e ajustadas por idades, mais baixas. Nas havaianas nativas, que majoritariamente apresentam tumores RE+/RP+, a alta mortalidade pareceu estar ligada a aspectos socioeconômicos e à acesso restrito aos recursos médicos. Japonesas (nipo-americanas) apresentam tumores predominantemente RH+, e a alta incidência da doença nessa etnia parece se dever a que tais tumores são de fato mais comuns; e à grande frequência com que fazem uso de tratamentos hormonais do climatério (TH). As japonesas tendem a ser mais magras, e o baixo índice de gordura corporal motiva sintomatologia climatérica mais intensa, com uso mais alargado de hormônios. Por outro lado, a mortalidade mais baixa é coerente com os subtipos menos agressivos de câncer mamário.

As conclusões do MCS são consistentes com os dados de acompanhamento de outras coortes e de revisões qualitativas e quantitativas. Os autores frisam que os fatores de risco diferem devido aos receptores hormonais, que por sua vez variam com a raça e etnia. Aspectos reprodutivos como idade da menarca, do primeiro parto e terapias hormonais estão associados apenas aos tumores RH+; a obesidade se relaciona a cânceres da pós menopausa, por representar importante estímulo à produção de estrogênios nessa fase. Uso de álcool e história familiar distribuem-se em ambos grupos (RH+ e RH-) sem determinismo biológico para tal (SETIAWAN et al, 2009).

Especificamente em relação à incidência em mulheres latinas, há extensas pesquisas. Patel et al (2010), estudando mulheres oriundas do México, América do Sul e Central, Porto Rico e Cuba, residentes na Bacia de São Francisco (EUA), observou que: embora a ocorrência do câncer de mama nessas populações seja mais baixa que da população nativa, os casos já chegam mais avançados, e a doença representa a principal causa de morte dessas mulheres nos Estados Unidos. À semelhança do que já foi observado em nipo-americanas, a incidência em latinas é a princípio menor, mas crescente e progressiva nas segunda e terceira gerações, devido à interação com fatores sociais e ambientais. O menor acesso aos meios de diagnóstico e tratamento, se associariam aos fatores de risco ligados a questões genéticas e biológicas, dentre as quais uma maior incidência de tumores Triplo Negativos (TTN), e diferentes respostas aos tratamentos quimioterápicos, por sua vez ligadas a polimorfismos de genes associados ao metabolismo dessas drogas. Mesmo após os ajustes para “baixo status socioeconômico de minorias”, a incidência de cânceres avançados permanece mais alta em latinas, tanto devido a questões biológicas específicas, quanto comportamentais (PATEL et al, 2010).

Como acima dito, fatores de risco tradicionais: idade do primeiro parto, paridade e lactação, associados à obesidade e TH, variam nas subpopulações raciais; e contribuem tanto para a incidência mais alta de câncer entre as brancas, quanto à de cânceres mais avançados em outros grupos étnicos. Gililand e colaboradores, em 1998, relataram os resultados de um estudo caso-controlado realizado no Novo México (EUA), em que 798 hispânicas e 836 brancas não hispânicas, foram comparadas com

relação aos fatores reprodutivos Citaram o exemplo da paridade: a ausência de gestações e a primiparidade idosa constituiu fator de risco para o surgimento de câncer de mama em hispânicas, mais do que dentre brancas; em contrapartida a multiparidade, e a amamentação prolongada foram fatores de proteção para brancas, e de menor importância para hispânicas. As diferenças estariam ligadas a variados polimorfismos nos genes reguladores do metabolismo de esteroides (GILILAND et al, 1998). Hispânicas que dispunham do mesmo grau de acesso aos recursos médicos que a população americana do Colorado, apresentaram-se mesmo assim com tumores Triplo Negativos grandes, em idades precoces e estádios avançados (“odds ratio” ajustada por idade de 2,7, IC 95%: 1,26-5,77 para ter estágio IV), demonstrando questões biológicas, a despeito das socioculturais (WATTINGTON et al, 2008). Os estudos genéticos parecem confirmar tais aspectos, já que foram detectadas diferenças significativas nos genes de reparo do DNA dentre os três grupos estudados: brancas, negras e latinas. Outrossim a prevalência das mutações do gene BRCA1, nas latinas do norte da Califórnia (PATEL et al, 2010).

Abdulrahman Jnr e Rahman (2012), publicaram seus achados em Cardiff (UK), e Ilorin, (Nigéria). Compararam os cânceres de mama de pacientes europeias e africanas. Relataram diferenças fundamentais. A incidência da doença é menor dentre as nigerianas, mas estas tendem a manifestá-la em idades mais precoces, frequentemente na pré-menopausa, enquanto nas europeias, a maioria ocorre na pós menopausa. Doença inicial é o que prevalece nas europeias, principalmente após os programas de rastreio; as africanas são em sua maioria diagnosticadas com tumores avançados, resultando em menores taxas de sobrevivência. Embora nos dois grupos prevaleça o carcinoma ductal infiltrante, linhagens diferentes, ligados a RH- são comuns nas africanas, como os carcinomas medulares e mucinosos. Concluem observando que a história reprodutiva das africanas explicaria a incidência menor do carcinoma mamário, e que os aspectos sociais e genéticos seriam os determinantes da maior gravidade (ABDULRAHMAN JNR e RAHMAN, 2012).

Comparando especificamente evoluções de longo prazo, em pacientes não hispânicas negras e brancas, portadoras de Tumores Triplo Negativos, Prasad e colaboradores (2016), relataram não detectar diferenças nos dois grupos raciais.

Acompanharam 218 mulheres negras e 230 brancas do sudeste dos Estados Unidos, por 15 anos (seguimento de 0,14 a 14 anos, média de 3,8 anos), e encontraram padrões semelhantes de sobrevida global e livre de doença ajustados por idade e estadiamento, nos dois grupos. Reiteraram as observações de Dent et al (2007), que haviam relatado evoluções desfavoráveis dos TTN nos cinco anos após o diagnóstico, com picos de mortalidade aos três; mas tendência a prognósticos mais favoráveis depois desses prazos, assemelhando-se então aos demais subtipos (PRASAD et al, 2016).

1.3 - Influência dos aspectos socioeconômicos no câncer de mama no Brasil

No Brasil as condições socioeconômicas variam não só dentre classes sociais, mas dentre as cinco principais regiões geográficas que o compõem. Carvalho e colaboradores (2014), compararam os subtipos moleculares de 5687 casos de câncer invasivo de mama nessas áreas, a propósito das variações raciais existentes. Observaram que nas regiões Sul e Sudeste, com alta percentagem de ancestralidade europeia, e boas condições socioeconômicas, predominaram os chamados tumores luminais, ricos em receptores hormonais e de menor gravidade. Entretanto, a incidência da doença é mais alta. Na Região Norte, de população com menor poder aquisitivo, a equação se inverte: o câncer de mama é menos frequente, mas predominam subtipos mais agressivos como os Triplo Negativo e os Her2 superexpresso. No Centro-Oeste, predominam tumores triplo positivos, de agressividade considerada mediana; e na Região Nordeste, com forte ancestralidade africana, uma mistura mais ampla de subtipos. A presença mais significativa de TTN ao norte, é coincidente com a mais alta influência étnica e sócio - cultural africana nessa região: 77,8% (de afro descendência); comparada a 66,8% no nordeste, 65,9% no centro oeste, e respectivamente: 43,8% e 22,8% no sudeste e sul do país. Os autores mencionam a dificuldade de se considerar a questão racial no Brasil devido à grande miscigenação aqui ocorrida, e referida nos trabalhos de Pena e colaboradores (2011), os quais por sua vez, após estudo utilizando 40 genes ligados à ancestralidade, detectaram um nível de uniformidade genética muito maior que o esperado, dentre brasileiros de diferentes cores de pele e origens geográficas (PENA

et al, 2011). Sugerem que diferenças raciais se somam à aspectos econômicos, sociais, climáticos e nutricionais, que também interferem na distribuição e evolução da doença, e que devem ser levados em conta no planejamento das ações de prevenção e tratamento (PENA et al, 2011; CARVALHO et al, 2014).

Influências sociais e econômicas na evolução do carcinoma mamário, têm sido documentadas em nossa região, como em outros diferentes pontos do país. Guerra e colaboradores (2009), analisando a sobrevida de cinco anos em pacientes de Juiz de Fora, Minas Gerais, detectaram diferenças no risco de óbito segundo os locais de residência, o que poderia se relacionar à melhores condições de algumas parcelas da população, ao acesso a centros especializados de atendimento. Detectaram tumores maiores de 2 cm em 71,4% de mulheres não brancas, contra 58,3% dentre brancas. Embora a cor da pele não tenha se mantido associada aos óbitos no modelo multivariado, foi observada sobrevida inferior nas pacientes não brancas. Sugeriram a busca de diagnósticos precoces mediante o maior estudo de fatores prognósticos, e a garantia de tratamento e seguimento para todas as mulheres (GUERRA et al, 2009). Na mesma cidade (Juiz de Fora, MG) Duarte Cintra e colaboradores (2012), avaliaram perfis imunoistoquímicos e variáveis clínico-patológicas em pacientes de uma coorte hospitalar. Relataram expressivo encontro de Tumores Triplo Negativos na população estudada: 24,4% do total. O perfil se tornava ainda mais frequente em pacientes com menos de 50 anos: 40%; e cor da pele não branca: 39,7%. Concluíram que os TTN se mostraram mais avançados ao diagnóstico, com maior frequência de tumores maiores que 2cm e axilas comprometidas; devido ao menor acesso aos meios de prevenção e à maior agressividade dos mesmos (DUARTE CINTRA et al, 2012).

Na pesquisa de Schneider e D'orsi (2009), realizada em Florianópolis, Santa Catarina, as variáveis escolaridade e raça / cor foram significativas em relação a sobrevida global: 76,9% das brancas, tiveram cinco anos, comparadas a 62,2%, de negras, pardas, amarelas e indígenas agrupadas. Estas apresentaram outrossim, razão de risco 84% maior que as primeiras. Em relação à escolaridade, 92,2% das pacientes com nível superior sobreviveram cinco anos, contra respectivamente: 84%, 73,6% e 56% de pacientes com 2^o grau, 1^o grau e analfabetas. Em um dos estados com maiores índices de desenvolvimento humano (IDH) do país, a condição social se

mostrou como fator prognóstico fundamental para a sobrevida; a despeito do próprio estadiamento, que poderia por sua vez ser alterado em função de rastreamento adequado e igualitário (SCHNEIDER e D'ORSI, 2009).

Em Vitória, Espírito Santo, Albrecht e colegas (2013) também identificaram correlação significativa de aspectos sociais e mortalidade pela doença, em dez anos de seguimento. E que a presença de receptores de estrogênio e progesterona não significaram nesse prazo, fatores de proteção. Mas a ausência de ambos (tumores duplo-negativos), esteve relacionada à maior mortalidade. A origem das pacientes: SUS e não SUS (Sistema Único de Saúde) e o grau de instrução foram significativos quanto aos índices de mortalidade. Baixos níveis de instrução e encaminhamentos a partir do SUS, foram fatores de risco (ALBRECHT et al, 2013).

Em 2015, Ribeiro Soares e colaboradores compararam as taxas brutas de mortalidade por câncer de mama no Brasil, segundo a cor da pele, nos anos de 2000 e 2010. Em estudo ecológico descritivo, partindo de dados populacionais do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), e informações de óbitos do Ministério da Saúde, Sistema SIM (Sistema de Informações sobre Mortalidade), calcularam as taxas por regiões, estratificando-as em dois grupos etários: menores de 50 anos, e 50 anos ou mais. Demonstraram o aumento da mortalidade em todas as cores de pele, excetuando as amarelas. Principalmente entre as pretas e pardas de mais de 50 anos: respectivamente, 29,7 em 2000, para 40,4 em 2010; e 19,8 em 2000, para 28,5 em 2010 (taxas brutas por 100.000 mulheres). Na Região Nordeste os valores praticamente dobraram. Dentre as pardas menores de 50 anos, as taxas evoluíram de 2,5 / 100.000 em 2000, para 5,4 / 100.000 em 2010. Ressalvaram possíveis imprecisões referentes às limitações dos sistemas de informação utilizados, e à subjetividade dos dados de raça / cor já mencionados, mas sugeriram a consideração do perfil populacional das diferentes regiões do país, nas estratégias de controle da doença. (RIBEIRO SOARES et al, 2015).

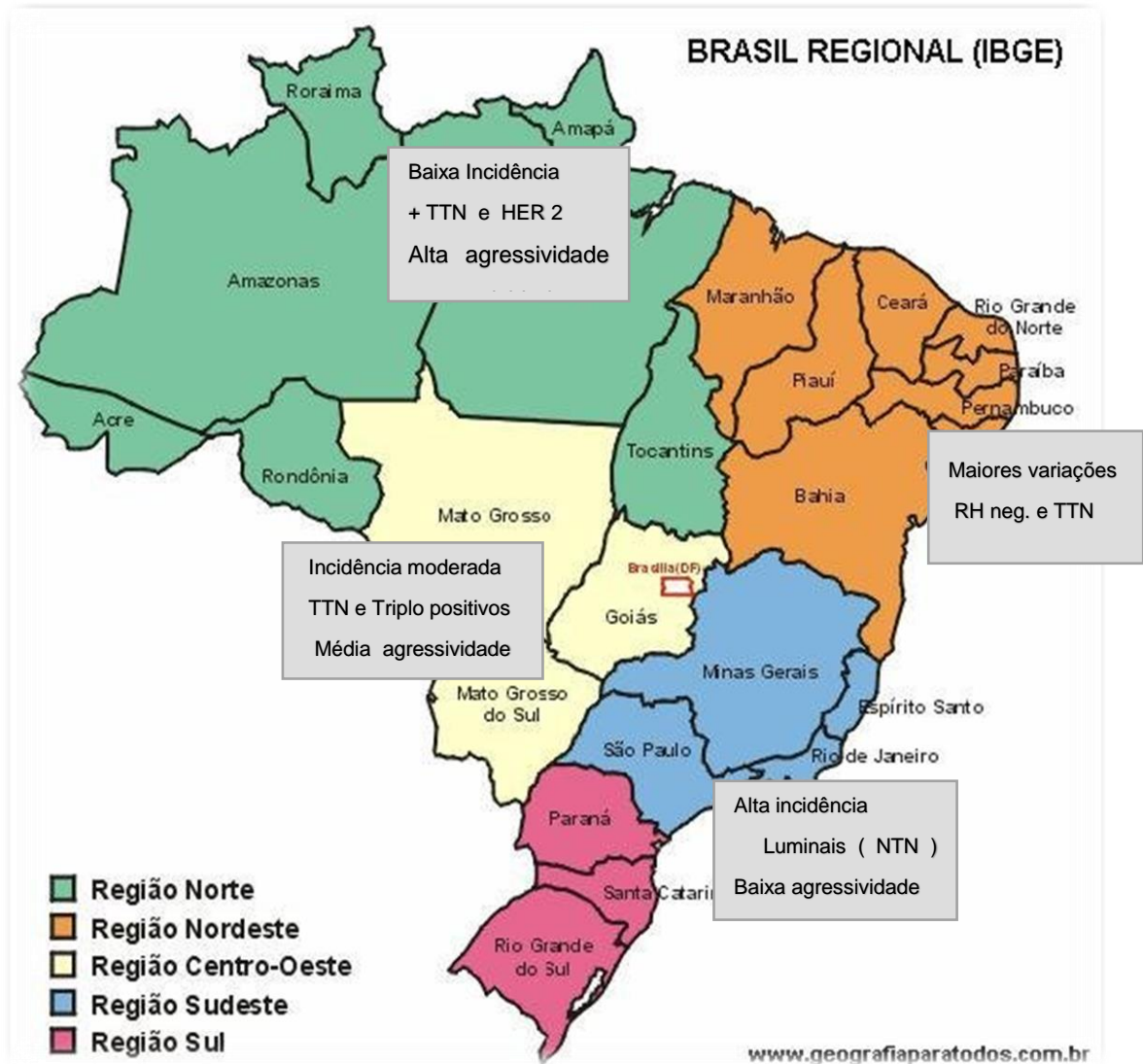


FIGURA 1 - Mapeamento das regiões brasileiras (IBGE) e distribuição dos subtipos tumorais (Adaptado conforme Carvalho e colaboradores, 2014)

1.4 – Questões envolvidas na classificação do câncer de mama

1.4.1- A Heterogeneidade Tumoral:

Identificar padrões semelhantes em termos de prognóstico e resposta terapêutica, é fundamental na abordagem do câncer, mas há dificuldades impostas pelo polimorfismo característico da maioria dos tumores. Casos que a princípio se assemelham, evoluem assimetricamente em função de determinismos genéticos,

condições moleculares e características do hospedeiro. A heterogeneidade é um aspecto comum à maioria dos cânceres, e dificulta a uniformização dos tratamentos; fatos particularmente perceptíveis nas neoplasias do tecido mamário (PEROU et al, 2000; PRATT et al, 2011).

As primeiras iniciativas para sistematização do câncer de mama, datam de 1905, quando Steinthal em Stuttgart, Alemanha, declarou sua decepção com os tratamentos cirúrgicos levados a efeito em doenças avançadas. Sugeriu a separação de três grupos ou estágios, iniciando em tumores de poucos centímetros, não aderidos à pele e sem linfonodos palpáveis; a que chamou de grupo 1. E denominou no outro extremo, como grupo 3, aos que ocupavam a maior parte da mama, com infiltração superficial ou a planos profundos, bem como acometimento dos linfonodos supra - claviculares. Desse último grupo, relatou que nenhuma de suas pacientes havia se curado. As propostas de Steinthal serviram de base para a classificação da Universidade de Columbia (EUA), proposta por Stout e Haagensen, em 1930 (STEINTHAL, apud HAAGENSEN 1986, p 851).

Esses primeiros estudos taxionômicos visaram identificar grupos que não responderiam bem às cirurgias. Logo a seguir foram adicionadas observações que não somente se referiam à amplitude operatória, mas também ao comportamento dos tumores, já que alguns demonstravam piores evoluções independentemente do tamanho, como era o caso dos carcinomas inflamatórios. Stout e Haagensen apontaram aspectos macroscópicos que prediziam maus resultados cirúrgicos, como edema de pele extenso, nódulos satélites e sinais flogísticos, a que denominaram de critérios de inoperabilidade. Relataram 59 casos operados no Presbyterian Hospital de Columbia, nos quais pelo menos um dos três critérios estava presente, levando a “desastrosos resultados”, marcados por recorrências locais em menos de cinco anos (HAAGENSEN, 1986; HARRIS, 2002).

Propostas subsequentes deram origem ao Sistema TNM, enunciado pela primeira vez por Denoix em 1944, no Instituto Goustave-Roussy de Paris. Este sistema envolve a avaliação de três aspectos essenciais na caracterização dos carcinomas: o tamanho do tumor: “T”; o comprometimento da cadeia linfática: “N”; e a evidência de metástases: “M”. A classificação foi aceita e oficializada pela “International Union Against Cancer” (UICC) em 1958, após aperfeiçoamentos introduzidos por sub -

comitês da OMS (Organização Mundial da Saúde). Se destinava inicialmente aos tumores de mama e laringe, com a recomendação de servir de parâmetro para comparação de resultados. Desde então vem sendo ampliada mediante discussões internacionais, coordenadas pelo “American Joint Committee on Cancer” (AJCC), em cujas edições o sistema é atualizado, e gradativamente estendido a novos sítios anatômicos. Na sexta edição do Manual para Estadiamento do Câncer, da AJCC publicada em 2002, foram propostas alterações para a classificação dos tumores mamários que vigoram atualmente (INCA, 2014; SPARANO et al, 2015). Duas novas edições foram publicadas posteriormente; em 2010 (7^a) edição) e 2016 (8^a) edição), em que aspectos moleculares da doença são comentados, sem implicarem em modificações no estadiamento (EDGE et al, 2010; AMIN et al, 2016).

1.4.2- Limitações do Sistema TNM:

O seguimento a longo prazo das pacientes, e a evolução dos tratamentos, evidenciaram a necessidade de dados mais abrangentes, não fornecidos pelo TNM. Este é capaz de precisar a extensão anatômica do tumor e facilita a troca de informações, mas é considerado biologicamente muito simples (SOBIN, 2003; PARK et al, 2011).

Os novos conceitos a respeito da natureza intrínseca dos carcinomas mamários, e os perfis genéticos e moleculares, não fazem parte desta classificação, embora sejam discutidos nas publicações periódicas dos comitês. Em 1995 foi editado o “Fatores Prognósticos do Câncer”: uma compilação sobre diferentes aspectos anatômicos e não anatômicos. E como antes mencionado, a 6^a) Edição do “AJCC Cancer Staging” ainda em uso, descreve cerca de 80 fatores prognósticos.

Se por um lado interessa englobar novos elementos de importância para cirurgiões e oncologistas, é sabido por outro, que classificações para serem factíveis devem ser concisas e de fácil manejo. Greene e colaboradores (2008), comentam que a simples aplicação do sistema TNM e suas subdivisões, já implica em até 24 situações diferentes para a neoplasia mamária, e que “há necessidade de se condensar informações, sob pena de perda de homogeneidade dos grupos”. Observam que a extensão da doença continua a ser o fator mais importante para o planejamento da conduta, e que há aspectos histopatológicos e moleculares que se

aplicam a determinadas situações, mas não a todas. Sugerem que sejam considerados em separado, “estadio a estadio” (SOBIN 2003; GREENE et al, 2008; INCA 2014).

O TNM continua largamente utilizado não obstante as limitações. E alterações são aceitas somente após prolongadas observações. A modificação mais importante que a sexta edição do AJCCCS trouxe em relação às anteriores, se refere aos linfonodos supra – claviculares, cujo comprometimento até 2003 era considerado metástase (M1), e passou a ser classificado como N3, representando doença ainda loco-regional. Estudos epidemiológicos demonstram de fato, que a sobrevida nesses casos, é igual à de axilas amplamente comprometidas (N2), não justificando diferenciação (GREENE et al, 2008).

Outros aspectos de fácil avaliação, como grau histológico, invasão vascular e linfática, também não são considerados no TNM. O desafio ao sistema é incorporar os pormenores que de fato importem, sem perder a simplicidade que o faz tão aplicável. A tarefa é complexa porque novos estudos abrangem dados anatômicos como os linfonodos sentinela e os da mama interna, acessíveis a métodos de imagem, além de fatores demográficos, histológicos e séricos; chegando à complexidade dos perfis genéticos e moleculares. O sistema TNM perdura por tanto tempo, e é de tal ordem importante, que se acredita que será aperfeiçoado a esse ponto (GREENE et al, 2008).

1.5 – As Classificações Moleculares

1.5.1 Estudos dos genomas celulares e aplicações na prática clínica

Informações mais precisas sobre a biologia e microambiente tumorais advieram de estudos genéticos e moleculares. Perou e colaboradores (2000), publicaram o artigo “Molecular portraits of human breast tumors”, demonstrando que as transcrições genéticas seriam as responsáveis pela ampla diversidade de comportamentos das células humanas, tanto saudáveis quanto tumorais. Compararam os padrões genéticos de 65 amostras de tecidos, saudáveis e acometidos por câncer, oriundos de 42

mulheres. Utilizaram as técnicas de micro arranjos de DNA, e enunciaram quatro subtipos de câncer de mamas:

- “Luminal - like”
- “Basal - like”
- “Cerb - b2” (HER2)
- “Normal breast like”

(PEROU et al, 2000)

Em 2001 o mesmo grupo de autores (Grupo de Stanford, EUA), confirmou sua proposta de classificação, e expandiu os Luminais para: “A”, “B” e “C”. Avaliaram a sobrevida global e livre de doença de 78 pacientes, e demonstraram que os fenótipos “Basal like” e Her 2 super expresso, evoluíam mal, com apenas 24 a 30% de sobrevivência em 5 anos, comparados a 90% dentre os Luminais A (SORLIE et al, 2001).

Investigando predição tumoral, van’t Veer e colaboradores, do “Netherlands Cancer Institute” (2002), usaram técnicas análogas, de mRNA, em 98 tumores de 117 pacientes linfonodo–negativas. E relataram que, dentre 25000 genes pesquisados, 70 poderiam prever, com maior acurácia que os métodos clínico e histopatológico (86% x 70%), cânceres propensos ou não, à disseminação (VAN’T VEER et al, 2002).

Trabalhos subsequentes vieram consolidar o conceito de subtipos tumorais através da expressão de genes e agregados genéticos (metagenes); e a relação dos mesmos com parâmetros clínicos relevantes: “status” linfonodal e tendência à recorrências, com implicações na sobrevida livre de doença e na sobrevida global. A caracterização do grau de risco para recaídas e metástases, passou a ser ferramenta para ultimar decisões clínicas (HUANG et al, 2003).

Objetivando identificar em tempo real, a expressão dos muitos genes envolvidos no surgimento do câncer mamário, foram propostos muitos ensaios a serem utilizados na prática diária dos ambulatórios de oncologia. O “EGAPP Group” (“Evaluation of Genomic Application in Practice and Prevention”), ligado ao Centro de Controle de Doenças (CDC) dos Estados Unidos, publicou em 2009 recomendações e observações sobre os de maior relevância:

- “Mammaprint Testing”

- “Oncotype DX”
- “Quest HI Testing”

A questão fundamental, já mencionada, envolvia os casos iniciais, estádios I e II com axilas livres, e o temor de super-tratamentos desnecessários. Ou por outro lado, a perda de oportunidade em se proporcionar mais uma chance de cura ou maior sobrevida, às clientes que pudessem se beneficiar da adjuvância, principalmente quimioterapia. Nesse sentido o “Mammaprint” identifica em tecido tumoral fresco ou congelado, 70 genes diretamente envolvidos com o câncer de mama e, 1800 genes normativos⁴, indiretamente ligados à doença. É recomendado para mulheres de até 61 anos, com tumores receptor-negativos ou positivos. Nunca maiores que 5 cm; e axilas negativas. Aponta os riscos de recorrências sem o uso de quimioterapia: baixo, médio e alto, sendo que esse último representa 56%, e justifica o uso da mesma ainda que em doenças iniciais.

O “Oncotype DX” é indicado em tumores RH+, ou seja, estrogênio dependentes. Pode ser utilizado em mulheres de qualquer idade, com doença estágio I e II, e axila negativa. Avalia o risco de metástases apesar do tratamento com antiestrogênicos, principalmente o Tamoxifeno (TMX). E por extensão, o benefício da QT associada ou em seguimento àquele. Identifica 21 genes, 16 diretamente ligados ao carcinoma mamário e 5 normativos. Pode ser aplicado em tecidos já fixados, o que facilita o uso.

O “HI ratio test” identifica dois genes especificamente ligados a recorrências: HOXB13 e IL 17BR; e quatro normativos. Seria capaz de prever o risco de recorrências em pacientes utilizando o TMX, e a conveniência de outros tratamentos alternativos ao mesmo. Se aplica aos tumores ER+ / PR+.

O “EGAPP Group”, recomenda considerar os fatores de risco tradicionais e em especial aspectos étnicos, quando da aplicação dessas ferramentas de prognóstico e

⁴ Os genes regulam o comportamento das células nos mais diversos aspectos e momentos. Há genes muito estáveis, denominados **normativos ou constitutivos**, que se relacionam a processos fundamentais como a manutenção da estrutura celular e metabolismo basal, e que mantêm suas mensagens mesmo quando a transcrição se faz sob condições de “stress”. Os processos regulados por tais genes são em geral demorados. As necessidades de adaptação rápida são conduzidas por genes **facultativos**, ou **reguladores**, que tanto ativam a transcrição e produzem rapidamente novas proteínas para o enfrentamento imediato da necessidade celular, quanto bloqueiam o processo, visando a homeostase do tecido. ([Nico Geisel](#): “Constitutive versus Responsive Gene Expression Strategies for Growth in Changing Environments”. [PLoS One](#). 2011; 6(11): e27033.)

predição. Admitem o valor das mesmas sobretudo em caso de associação de QT ao TMX. Citam as resoluções da ASCO 2007 (“American Society of Clinical Oncology”) que recomendam o “Oncotype” em tumores RE+/ LN- para avaliar a conveniência de QT adjuvante (BERG et al, 2009).

Em 2014, Martin Philipits e colegas, do “Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group” (ABCCSG) de Viena, propuseram o uso do “PAM 50”, o qual utiliza os níveis de expressão de RNA de genes intrínsecos⁵, para calcular os riscos de recorrência tardia (“Risk Of Recurrence - ROR”) a partir de cinco, até 15 anos de evolução. O ROR foi descrito como risco absoluto de recorrências a distância, iniciando em 2,4% (baixo risco) até 17,5%, considerado como risco alto. Acompanharam 1246 pacientes por um tempo médio de 11 anos, no estudo denominado ABCSG 8. Todas as mulheres estavam na pós menopausa, eram RH positivas e tinham tumores iniciais. Receberam Tamoxifeno (TMX) por cinco anos ou TMX por 3 anos, seguido de Anastrozol por mais 2 anos. As análises genéticas foram feitas nos fragmentos tumorais previamente fixados em formalina e contidos em blocos de parafina. Um algoritmo calculado por computador englobou: quatro perfis genéticos (46 genes intrínsecos de um total de 50); um “score” proliferativo (18 genes), e o tamanho do tumor medido no laudo histopatológico. Os dados do ABCCSG serviram de base para a indicação da extensão da hormonioterapia (HT), que classicamente é realizada por cinco anos, mas que pode ser estendida por um prazo maior. Ou mesmo de sua contraindicação em pacientes de baixo risco (PHILIPITS et al, 2014).

Outros trabalhos vieram reforçar o valor do sistema PAM 50 na quantificação de risco de metástases tardias em pacientes RH positivas. Sestak e colaboradores (2014) reiteraram as capacidades do mesmo e, associaram ao ABCSG 8, os resultados de outra coorte denominada Trans ATAC (“Arimidex / Tamoxifeno Alone or in Combination”), no qual foram também acompanhadas, pacientes com tumores mais graves (SESTAK et al, 2014). E com base nos estudos de ROR, foi desenvolvido o “Prosigna” (Nanostring Technologies - Seattle EUA), que avalia por hibridização

⁵ O termo “Genes Intrínsecos” é muito utilizado, inclusive por Perou e o Grupo de Stanford, para se referir aos genes que caracterizam especificamente determinado tumor. Para tal relatam que tais genes variam menos dentro de um mesmo tumor, que dentre as amostras de diferentes tumores, principalmente nas técnicas de grupamento hierárquico. (LAVASANI e MOINFAR, 2011)

específica 50 genes, dos quais 8 são normalizadores (normativos), seis controles positivos e seis controles negativos. Os resultados são descritos como: de risco baixo (<10%); intermediário (10 a 20%) e alto (>20%). É mais uma ferramenta a auxiliar o tratamento adjuvante do carcinoma de mama, nesse caso com vistas ao acompanhamento de longo prazo (DELMONICO, ALVES e AMARAL, 2015).

1.5.2 A imunistoquímica e a identificação de antígenos celulares

Paralelamente aos estudos genéticos, técnicas de imunistoquímica vieram sendo aprimoradas e permitiram a progressiva identificação de antígenos celulares proteicos, diretamente associados ao comportamento dos tumores. Esses antígenos viabilizaram classificações análogas às genéticas, baseadas no fato de as proteínas expressarem a atuação específica dos genes (PEROU et al 2000; NIELSEN et al, 2004; KREIKE et al, 2007; FERNANDES et al, 2009; BLOWS et al, 2010). Mais simples e acessível que os métodos genéticos, a imunistoquímica veio progressivamente apontando novos indicadores do comportamento tumoral, igualmente úteis para diagnóstico, prognóstico, e estabelecimento de alvos moleculares para drogas antiláblicas (VIEIRA et al, 2007).

Com a finalidade de reconhecer as mudanças nas evoluções a curto e longo prazo, quanto ao encontro por imunistoquímica de antígenos moleculares específicos, Blows e colaboradores (2010), avaliaram 10159 casos de câncer mamário, de um total de 12 estudos reunidos. Concordaram com a divisão das neoplasias mamárias em luminais e não luminais como já proposto, segundo a respectiva presença ou não, dos receptores hormonais (RE e RP). E com a eventual associação a esses dois grupos, do HER2. Os tumores negativos para receptores hormonais e HER2, ou Triplo Negativos, constituiriam um grupo especial, por sua vez subdivididos em basais e não basais, conforme a detecção nos primeiros, de proteínas ou marcadores de células basais do epitélio, principalmente as citoqueratinas 5 e 6 (CK 5/6), e o Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR). Demonstraram variações nas taxas de mortalidade de cada subtipo, postulando que, na ausência de HER2, elas se mantêm constantes ao longo do tempo, enquanto dentre os HER2 positivos, tenderiam a um pico de mortalidade nos primeiros cinco anos após o diagnóstico, com

declínio posterior. O prognóstico da doença não luminal segundo esses autores, tenderia a ser pobre nesses primeiros cinco anos, mas se equivaleria aos luminais depois desse prazo. Já em seguimentos de dez anos ou mais, as taxas de mortalidade tenderiam a se modificar em favor dos não luminais, principalmente se triplo negativos; e aos 15 anos após diagnóstico, a pior evolução seria dos luminais HER2 positivos, chamados de Luminais 2 ou Luminais B⁶. Insistiram na importância da pesquisa dos marcadores basais, que identificariam o subgrupo basal dentre os Triplo Negativos (BLOWS et al, 2010).

O grande número de pesquisas e publicações, confirmou o valor e a aplicabilidade da imunohistoquímica e das classificações moleculares, a serem utilizadas em conjunto com as informações tradicionais de prognóstico. Em 2011 a reunião do “St Gallen International Expert Consensus”, referendou a aceitação internacional das mesmas, descrevendo-as como “novo método de classificação do câncer de mama, usando aspectos clínico-patológicos e de expressão gênica”. E que “a definição dos subtipos tumorais é de fato prognóstica, com alcances de predição a serem progressivamente avaliados”. Foi declarado ainda que os ensaios multigênicos teriam limitações de custo, e seus resultados poderiam ser aproximados pela imunohistoquímica.

O “St Gallen” 2011 confirmou também a importância dos indicadores de proliferação celular no prognóstico e classificação de tumores, sobretudo do Ki-67. A expressão do mesmo significa incremento no ciclo celular e se associa aos parâmetros histológicos, principalmente ao grau tumoral. A detecção desse marcador em mais de 14% das células, passou a diferenciar os tumores luminais em “A” e “B”.

Quatro subtipos de carcinoma de mama foram confirmados nesse painel:

- Luminais A: RH+, HER2-, Ki 67 < 14%
- Luminais B: RH+, HER2+; ou: RH+, Ki-67 ≥ 14%
- HER2 Positivo: RE-, RP-, HER2+
- Triplo Negativo: RE-, RP-, HER2- (GOLDHIRSCH et al, 2011; INWALD et al, 2013)

⁶ O conceito do perfil Luminal B, desde que surgiu, se mantém discutido até a data atual. A identificação ou a expressão do gene C-Erb b2, e ou do Ki 67 elevado, associados a tumores RH positivos, conceituam esse subtipo tumoral. A própria terminologia concernente ao mesmo varia, mas permanece essa estratificação dos luminais na maioria dos trabalhos, devido às nítidas diferenças de evolução e prognóstico (ASCO 2014; J Clin Oncol, 32: 2794).

A disponibilidade dos receptores hormonais (RE e RP) e do HER2, bem como o uso já rotineiro desses marcadores na prática clínica, transformou-os em alternativas razoáveis aos métodos mais dispendiosos de subtipagem genômica (PARISE e CAGGIANO, 2014), mas há muitas questões em aberto. Recomendações expressas da ASCO e do Colégio Americano de Patologistas a respeito dos cuidados com a caracterização istoquímica do HER2, foram publicadas em 2007 e reavaliadas em 2014. Estabelecem critérios para a titulação do mesmo, reiterando a necessidade da realização em todas as pacientes com tumores infiltrantes, a despeito do estadió (precoce ou avançado), e a repetição frente a novos tratamentos. Ou quando o resultado do teste for negativo ou dúbio. Será positivo o teste que demonstre mais de 10% de células contíguas e homogêneas do tumor coradas, ou pelo menos 20 células contíguas em área definida da lâmina. Se o teste é dúbio (menor percentagem ou número insuficiente de células) usa-se o ensaio alternativo: o FISH ou a IHC, a depender do inicialmente feito. Há que se considerar ainda a concordância com os achados histopatológicos do caso (WOLFF et al, 2014).

Em 2015 Calhoun e Collins reiteraram a importância da expressão gênica para a classificação dos tumores de mama, bem como para predição e risco. Mas comentaram outrossim a validade da identificação dos receptores de estrogênio, progesterona e do HER2 pela istoquímica, na determinação da necessidade ou tipo de adjuvância. Ressaltaram a complexidade dos testes para o HER2 devido à heterogeneidade tumoral e possível polissomia (CALHOUN e COLLINS, 2015)

A amplitude morfológica e a complexidade genética e molecular do câncer de mama, impedem qualquer declaração suficientemente abrangente e conclusiva a respeito dos melhores métodos ou recursos para a caracterização definitiva do mesmo. As informações se somam e eventualmente se contradizem; ou são superadas. Voltaremos à discussão quando da caracterização dos TTN, cuja heterogeneidade se mostra ainda maior que a dos demais subtipos, mas tomamos a liberdade de reproduzir literalmente uma declaração de Bianchini e colegas feita em 2016, que talvez auxilie na compreensão do problema:

“The clinical and molecular heterogeneity of breast cancer is well known. The advancement and widespread application of ‘omics’ technologies (genomics, epigenomics, transcriptomics or proteomics, among others) has provided unprecedented insights and novel understanding of the molecular complexity of this disease. In spite of this complexity, clinical decisions still rely primarily on the assessment of three markers: the expression of the endocrine receptors for oestrogen and progesterone (ER and PgR, respectively) and the aberrant expression of HER2. The definition of triple-negative breast cancer (TNBC) applies to all tumours that lack the expression of ER, PgR and HER2, all of which are molecular targets of therapeutic agents. Nevertheless, chemotherapy is still the primary established treatment option for patients with early-stage and those with advanced-stage TNBC” (BIANCHINI et al, 2016)

1.6 – Controvérsias nas classificações moleculares

Os quatro subgrupos propostos no Consenso de St Gallen 2011, se mantêm como referências básicas, mas a expansão das listas de genes possíveis de serem identificados, e a progressiva detecção de novos marcadores, alimentam questões quanto à taxonomia mais adequada ou mais completa.

Pratt, Parker e outros, descreveram em 2010 um novo subtipo denominado “claudin-low”, caracterizado pela redução das claudinas: proteínas envolvidas nas comunicações intercelulares e na resposta imunológica dos tecidos. Os “claudin-low” seriam tumores Triplo Negativos, com etiopatogenia relacionada ao fenômeno de transição epitélio-mesenquimal, e com a particularidade de baixa resposta à quimioterapia; sobretudo à antracíclicos e taxanes (PRAT et al, 2010). Estruturalmente se aproximariam de outro subtipo tumoral também descrito pelo grupo de Stanford, e muito discutido, denominado “normal-like breast cancer”, situação na qual, genes de células saudáveis não epiteliais, como macrófagos, células adiposas, fibroblastos linfócitos, etc, estariam expressos e disseminados dentro as células malignas, constituindo uma mistura de tecidos normal e neoplásico em um mesmo tumor (PRAT & PEROU, 2011).

Os trabalhos evoluíram na busca de maior potencial de predição terapêutica, mas sob o constante questionamento em dois aspectos:

A) O paralelo aos parâmetros tradicionais de prognóstico: atipia celular e grau tumoral; tamanho do tumor; linfonodos acometidos e invasão vascular, que reunidos seriam capazes de caracterizar tão bem os tumores, a ponto de as classificações moleculares serem irrelevantes.

B) Dentre as classificações moleculares, quais metodologias seriam mais abrangentes e confiáveis?

Com relação ao primeiro questionamento, percebe-se o cuidado de se sugerir o uso da nova taxonomia em associação aos aspectos clínicos tradicionais, indispensáveis a qualquer abordagem. Mesmo em críticas ao sistema TNM, os autores deixam claro a relevância dos aspectos anatômicos. E em todos os momentos dessa evolução, a importância dos achados de histopatologia. A classificação dos tumores de mama da OMS publicada em 2003, foi revisada por Sinn e Kreipe em 2013, reconhecendo os inúmeros progressos no entendimento da patologia e da microambientação da doença, mas ainda com indefinição da classificação molecular. Foram adicionados os dados moleculares e genéticos aos conhecimentos morfológicos tradicionais. A classificação da OMS é ampla e, abrange cada tipo histológico, desde o carcinoma ductal infiltrante do tipo não especial, preponderante, até os casos raros; correlacionando-os com os marcadores já descritos (SINN & KREIPE, 2013). De forma semelhante, a valorização dos indicadores de proliferação celular, principalmente do Ki 67, no Consenso de St Gallen 2011, vem coincidentemente de encontro aos fatores prognósticos mais tradicionais, que são os graus histológicos e tumorais.

Ainda abordando esses aspectos, Albergaria e cols (2011), correlacionaram o “Nottingham Prognostic Index” com achados de biologia molecular; especificamente em tumores basais. Esse índice tradicional, associa tamanho do tumor ao estado linfonodal e grau tumoral, para cálculo da de agressividade e chance de morte por câncer de mama. Os autores concluíram que, apesar do comportamento peculiar dos tumores basais com relação a acometimento axilar, a aplicação dessa ferramenta de prognóstico é possível e útil, e que as novas informações otimizam o entendimento das já existentes (ALBERGARIA et al, 2011).

Com relação a críticas às assinaturas genéticas, frequentemente se arguem caracterizações pobres, confundíveis e não reprodutíveis em outros ensaios. Lavasani e Moinfar (2011), alegam que para a caracterização dos tumores “basal-like”, a identificação de citoqueratinas basais, ou de alto peso molecular, não é suficiente, já que as mesmas podem estar presentes tanto na camada basal quanto luminal do epitélio. Nas unidades terminais ducto-lobulares (UTDL), sítios comuns de início do câncer mamário, as CK 5/6; 14 e 17 estão presentes em células luminais, e não nas basais. Além disso as CK variam na dependência do estado funcional do tecido, e os critérios de titulação das mesmas são variados e sem uniformidade. Comentando as técnicas de “microarrays”, exprimiram como outros, as suas desconfianças nos ensaios baseados em múltiplos grupamento de “genes intrínsecos”, e pequeno número de informações sobre acompanhamento de pacientes, paralelamente a enormes bases de dados (LAVASANI & MOINFAR, 2011).

Os diversos grupamentos de genes intrínsecos disponíveis para identificação de perfis tumorais, por um lado ampliam o alcance e a capacidade de avaliação; por outro expõem falhas metodológicas quando se busca uma uniformidade de procedimentos que valide as técnicas genéticas. Weigelt et al (2010), avaliaram três métodos de micro arranjos de DNA: “micorarray-based single sample predictors”. Descreveram a incapacidade dos mesmos em agrupar uniformemente as pacientes em subtipos também uniformes, embora fossem aptos a identificar grupos com sobrevidas semelhantes. Declararam que, para a incorporação definitiva das classificações moleculares na prática clínica e nas decisões terapêuticas, seria necessária rigorosa uniformização e padronização de metodologias (WEIGELT et al, 2010). Mackay e colegas (2011), visando determinar a objetividade, a reprodutibilidade e o grau de concordância inter-observador quando do uso de cinco grupamentos hierárquicos de genes intrínsecos, detectaram que nenhum dos sistemas testados demonstrou perfeita concordância avaliada pelos testes de Kappa, embora escores marginais tenham sido atingidos na separação entre luminais, basais, Her2 e “normal-like”. Quando se intentou à separação de luminais “A” e “B”, nenhum dos métodos proveu concordância. Apenas dois subtipos puderam ser reprodutivamente identificados por cinco observadores independentes: tumores basais e Her2 (MACKAY et al, 2011). Kaufmann e Puzstay (2011) comunicaram as recomendações de um painel de

“experts” reunidos sob auspícios da “American Cancer Society” (ACS), em Biedenkopf, Alemanha, reconhecendo a inexistência de métodos uniformes para as classificações moleculares, e que essa definição é urgente para confirmar a relevância clínica das mesmas. Mas que o uso já rotineiro dos receptores de estrogênio e HER2, associado ao grau histológico e do Ki 67, bem como dos sistemas “Mammaprint e GGI, proporcionam informações aplicáveis à estratificação de pacientes e seleção para ensaios clínicos (KAUFMANN e PUSZTAI, 2011).

Apesar dos aspectos discutíveis das classificações moleculares realizadas mediante ensaios genéticos ou imunoistoquímica, é fato que as mesmas foram incorporadas à prática da imensa maioria dos serviços de oncologia. Houve por outro lado, uma recente revalorização dos parâmetros clínicos, na medida que as informações dos mesmos foram confirmadas pelos novos conhecimentos. E o uso associado de ambos os recursos vai evoluindo progressivamente. Bagaria e colaboradores (2014) compararam 1842 casos de câncer de mama, estratificados por imunoistoquímica em Triplo-Negativos e Não Triplo Negativos, comparando curvas de sobrevida. Adicionaram a classificação TNM aos dois grupos, e demonstraram que, baseando-se nesse parâmetro (sobrevida global) os Triplo Negativos se comportavam como se fossem 1 grau a mais do sistema TNM, e que a incorporação dos dados não anatômicos representou ganhos no estadiamento, e maior acurácia no prognóstico dos tumores (BAGARIA et al, 2014). Em publicação da ASCO sobre genotipagem de tumores, e mais especificamente sobre o Luminal B, Ades e colegas (2014), comentaram a coincidência do método com os resultados da IHQ; e o valor de ambos. Partindo da sistematização dos perfis tumorais em quatro grupos fundamentais (Luminais A Luminais B, HER2 e Triplo Negativos basais, como descritos pelo consenso de ST Gallen 2011), discutiram sobre a caracterização do Luminal B, sua agressividade indiscutivelmente maior que dos luminais A, e uma resposta mediana tanto à hormonioterapia quanto à quimioterapia. Realizaram comparações de risco utilizando as ferramentas “Mammaprint” e “Oncotype DX”, reconhecendo a utilidade das mesmas. E em consonância com relatos prévios, a importância dos marcadores de proliferação celular, notadamente o Ki 67 como aspecto preditor da resposta à QT (ADES et al, 2014).

Em 2013, Green, Powe e Rakha, da Universidade de Nottingham (Nottingham, UK), comentaram a importância dos ensaios e perfis genéticos para o conhecimento do câncer de mama, mas criticaram o alto custo, a pouca reprodutibilidade e praticidade desses métodos na clínica diária. Propuseram a identificação de “fenótipos chaves” do câncer de mama, baseada num painel de biomarcadores proteicos, identificados por imunistoquímica. E afirmaram a equivalência desse recurso aos anteriores, em termos de comportamento tumoral e resposta a tratamentos. Partiram da análise de 1073 cânceres de mama cujo conteúdo proteico foi esmiuçado e, comparado aos fatores clínico-patológicos e evolutivos de cada portadora. Estudaram a princípio 25 proteínas-chave, depois reduzidas para 10, cuja identificação nos tecidos tumorais proporcionaria uma técnica aplicável e cientificamente robusta para a diferenciação de tumores luminais e basais, altamente indicativa da evolução das pacientes. (GREEN, POWE, RAKHA et al, 2013).

Esse estudo serviu de base para outra pesquisa, publicada em 2014, no qual os mesmos autores propuseram uma atualização do “Nottingham Prognostic Index”, já anteriormente mencionado, como ferramenta de decisão clínica para tratamento do carcinoma de mama. Adicionaram a identificação de 10 proteínas (RE, RP, CK 5/6, CK 7/8, EGFR, HER2 (C-erb b2), HER 3 (C-erb b3), HER4 (C-erb b4), Mucin 1 e P53), e denominaram o novo método de: “Nottingham Prognostic Index Plus”. A identificação desses marcadores foi calculada num algoritmo computacional, delimitando 3 sub-classes luminais, duas basais e duas HER2 positivas, constituindo 7 subgrupos denominados: “Core molecular classes”:

- Classes: 1, 2, 3: Luminais A N e B
- Classes 4 e 5: Basais p 53 alterados e, Basais p 53 normais
- Classes 6 e 7: Her 2 positivos, estrogênio-positivos e, Her 2 positivos, estrogênio-negativos

Aplicaram esse novo índice a uma série de 997 pacientes já anteriormente tratadas segundo o NPI tradicional⁷, demonstrando capacidade ainda mais ampla de prever evoluções adversas, especificamente em cada uma das classes propostas

⁷ O “Nottingham Prognostic Index” avalia os tumores pontuando segundo o tamanho (multiplicado por 0,2) mais o grau tumoral (1, 2 ou 3) mais o eventual número de linfonodos acometidos (0 linfonodos = 1 ponto, 1 a 3 = 2, 4 ou mais linfonodos = 3 pontos. Feita a soma considera-se como baixo risco valores até 3,4; moderado: 3,41 a 4,4; alto risco $\geq 4,41$. (Rakha et al, 2014)

(RAKHA et al, 2014). Em que pese a maior complexidade dessa proposta de classificação, ela como outras, denotam a busca pela associação de dados anatômicos e morfológicos, às novas informações de biologia tumoral.

Há evidências suficientes para a aplicação dos métodos de taxonomia molecular. A evolução dos conhecimentos trará as ponderações necessárias ao completo desenvolvimento; e respostas às muitas dúvidas ainda existentes.

1.7 – Tumores Triplo Negativo

1.7.1- As Células da Mama: desenvolvimento normal:

O epitélio mamário é constituído por dois estratos celulares que possuem aspectos morfológicos, funcionais e moleculares diversos: as camadas luminal e basal. Essa diferenciação é importante para o estudo das neoplasias, porque estas serão da mesma forma, fenotipicamente diferentes, na dependência de sua origem e do tipo celular predominante.

As células luminiais, mais uniformes e diferenciadas, revestem a superfície dos ductos e lóbulos, e têm função secretora. As células da camada basal são heterogêneas, menos diferenciadas, e misturam características epiteliais e musculares, sendo por isso denominadas mioepiteliais. Têm a função de ejeção láctea e de manter a continuidade da produção de leite. Têm, além disso, a importante função de sustentação de todo o epitélio mamário (GUDJONSSON et al, 2005).

Sob as células mioepiteliais há uma membrana basal, que promove a correlação do parênquima mamário com o estroma conjuntivo subjacente (figura 2). O epitélio induz à formação da membrana basal, e esta por sua vez exerce influência na maturação epitelial. Há uma complexa dinâmica de relacionamento célula a célula, bem como célula-substrato, que garantem a adequada compartimentalização (manutenção da polaridade dos epitélios) na mama normal. Sinais intercelulares homotípicos, interferem na adesão célula a célula do estrato luminal. E na fixação e relacionamento heterotípico destas, com as mioepiteliais e do tecido conjuntivo subjacente. (POLYAK e HU, 2005).

A interface epitelial-mesenquimal, além de induzir à formação da membrana basal, contém as células imunes e do endotélio vascular, de enorme importância para a defesa e manutenção do tecido sadio. São células dotadas de mobilidade e do poder de penetrar nos espaços dos tecidos, para manter plasticidade e para responder a estados metabólicos, cíclicos e altamente variáveis: resposta à agressões, crescimento, remodelação e morte celular. Esses mesmos elementos poderão ter grande participação na disseminação de tumores (DICKSON e RUSSO, 2002; GUDJONSON et al,2005)

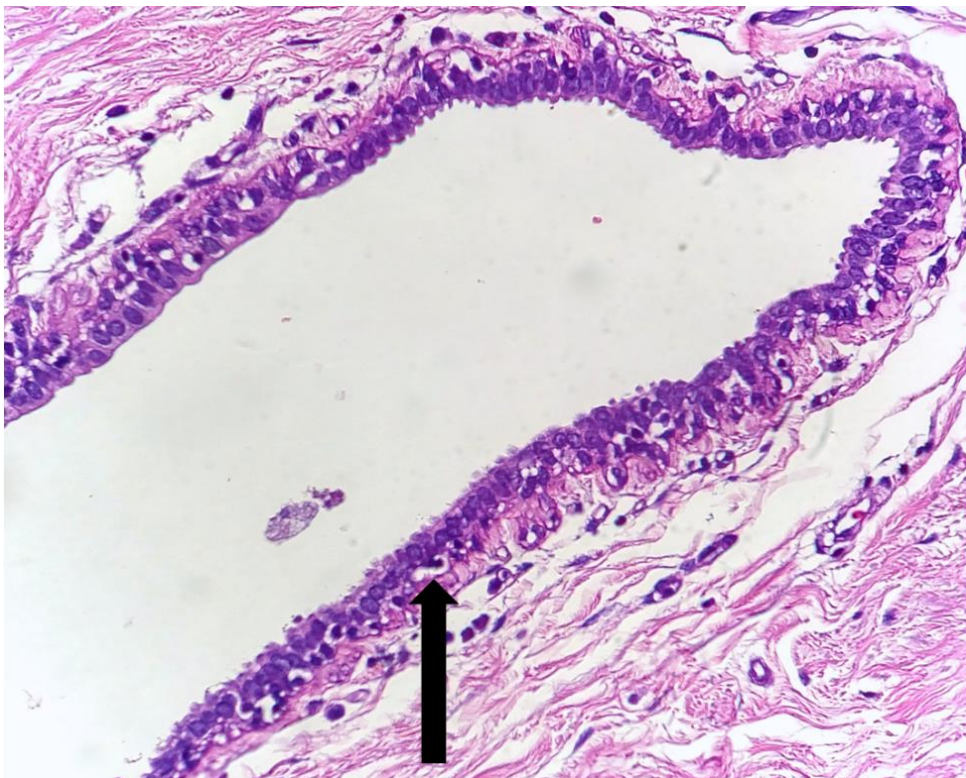


FIGURA 2 - Epitélio mamário normal: ducto. Células mioepiteliais (seta) Laboratório de Anatomia Patológica do Hosp. Universitário UFJF Dr Leonardo Jardim Gripp e Dr^a Louise Gracielle de Melo e Costa

1.7.2- A Mama nas Diferentes Fases da Vida Feminina:

O desenvolvimento mamário é promovido principalmente pelos hormônios gonádicos: estrogênio e progesterona. E pela prolactina e gonadotrofina coriônica (beta HCG) na gravidez. Esse desenvolvimento é mediado por fatores locais de crescimento: epiteliais (EGF) e dos fibroblastos (FGF).

Em torno da puberdade há o agrupamento de aproximadamente 11 botões alveolares ao redor de um ducto único, e a esse conjunto se dá a denominação de lóbulo do tipo 1, ou virginal. Essa primeira unidade mamária, constituída de pequenos ductos e suas ramificações, se caracteriza por células em acentuada proliferação. É também denominada unidade ducto-lobular terminal (UDLT) e tem importância fundamental porque, segundo a maioria dos autores, além de ser o ponto inicial da morfogênese mamária, pode ser o ponto onde se iniciam os tumores. Nas fêmeas pré-púberes, em condições normais, o estrogênio interage com as UDLT e promove o alongamento e a ramificação dos ductos, bem como a penetração desse complexo epitelial na gordura, com a qual começa a interagir. Com o estabelecimento de ciclos ovulatórios, a progesterona vem acrescentar alto potencial proliferativo. E nessa etapa, o hormônio de crescimento pituitário também estimula a proliferação de células, mediado pelo IGFI, ou indutor de crescimento tipo insulina. A ação hormonal é assim controlada a nível tissular por fatores produzidos pelo próprio tecido, capazes de modular tanto a divisão celular normal quanto as neoplásicas (STERNLICHT, 2006).

A proliferação é mais expressiva na fase lútea do ciclo menstrual, pela ação da progesterona. Esse potencial proliferativo do hormônio, se torna ainda mais intenso nas gestações, mas é otimizado e dependente do efeito prévio e permanente do estrogênio. A alternância de proliferação e morte celular programada, ou apoptose, faz com que o epitélio mamário se renove a cada ciclo.

A evolução dos lóbulos do tipo 1 para lóbulos do tipo 2 e 3, complementa o amadurecimento mamário, através de um processo complexo e único. Essas estruturas já dispõem de epitélio mais diferenciado, capaz de exercer lactogênese; bem como de matriz intercelular e mesênquima, capazes de sustentar e reparar o órgão. Na mulher adulta não grávida persistem os ciclos de proliferação / regressão, nos quais participam como acima dito, os esteroides ovarianos, a prolactina, a insulina e os fatores de crescimento. O estrogênio e a progesterona, através de seus receptores: RE e RP, estimulam proliferação celular, mediados localmente pelas famílias EGF e TGF: alfa e beta. A resposta estromal é regida pelos mesmos esteroides, atuando em conjunto com os fatores produtores de fibroblastos: FGF 1 e 2. Estímulos cíclicos à multiplicação celular, são contrapostos por subunidades que a bloqueiam: os antígenos TGF beta, produzidos no tecido conjuntivo. Essa

contrapartida gera o equilíbrio que garante a arquitetura normal. Os lóbulos do tipo 4 foram descritos como a maturação final do tecido mamário, mas ocorrerão exclusivamente após a gravidez e amamentação (RUSSO J. e RUSSO I.H., 2004; STERNLICHT, 2006)

1.7.3- Distúrbios da Diferenciação e Predisposição a Neoplasias:

O aspecto morfológico do tecido mamário vai depender da fase de vida da mulher, diferindo a infância da puberdade e, mais ainda, da fase de maturidade. Estabelecido o menacme, a alternância hormonal determina as variações cíclicas na histologia: fases proliferativa e secretória que acompanham cada ciclo menstrual.

No tecido sadio o fenômeno do apoptose controla as proliferações. E genes indutores ou repressores, determinam o balanço desses estímulos. Instabilidades e mutações desses genes, podem predispor à multiplicações anormais e, nesse caso, são acionados outros mecanismos de vigilância, para a eliminação dos clones mutantes. São múltiplos os sistemas intra e intercelulares envolvidos nesse controle, mas destacam-se os oncogenes: c- myc, PRB, P- 53 e B-cl 2, dentre tantos outros (LIPPONEN 1999; CALLAGY et al, 2006).

A formação dos tumores mantém analogias ao desenvolvimento normal. Falhas dos mecanismos de controle acima referidos, constituem muitas vezes eventos precoces que ocorrem em mulheres jovens, principalmente nas UDLT. Dão início a um processo neoplásico de evolução incerta: irá prosperar ou não, na dependência de mutações genéticas e epigenéticas adicionais, alterações no micro-ambiente dos epitélios envolvidos, ou outras agressões ao DNA celular.

Ressalte-se que há uma barreira natural de contenção às neoplasias, que é representada pelas células basais, ou mioepiteliais. Estas exercem influências importantes no comportamento dos tecidos com que se relacionam: tanto o epitelial quanto o conjuntivo. Ao se justaporem aos grupos celulares neoformados, bloqueiam esses elementos epiteliais em condições de pré malignidade, como os carcinomas ductais “in situ”. Paralelamente, no mesênquima, reduzem a angiogênese estromal, dificultando a vascularização dos clones celulares e a progressão tumoral (BARSKY e KARLIN, 2006).

Predisposições hereditárias, aspectos reprodutivos, nutrição, hábitos e vícios, participam dessa evolução longa e acidentada dos clones celulares, rumo à possível cancerização. Há por outro lado, como citado, inúmeros mecanismos de defesa e reparo genético com retorno à higidez, que é o que predominantemente ocorre.

1.7.4 - Importância da Gravidez e da Amamentação:

Fatores hormonais como a idade da menarca, e principalmente as gestações, interferem na evolução e diferenciação das células mamárias. Trabalhos prospectivos e meta-análises, vêm demonstrando o efeito protetor a longo prazo das gravidezes precoces e da amamentação, contra o câncer da mama (MA et al 2006; LORD et al 2008).

As condições que influenciam a exposição cíclica e cumulativa aos hormônios durante a vida reprodutiva, parecem estar associadas à gênese dos tumores, principalmente dos que apresentam receptores hormonais positivos (RE e RP). Idade da menarca, intervalo entre essa primeira menstruação e a primeira gestação, paridade, amamentações e uso de anovulatórios hormonais, têm sido avaliados quanto ao risco ou proteção que possam representar. Na pós menopausa a obesidade parece predispor de forma análoga, a um incremento na síntese de estrogênios, com aumento do risco de carcinogênese mamária também nessa fase (ALTHUIS et al, 2004).

Já foi demonstrado que, nas nuligestas, no período de maturidade, 65 a 85% do compartimento lobular mamário é constituído por lóbulos do tipo 1, com elevado potencial de divisão celular; e suscetibilidade a fatores carcinogênicos. As células-tronco que renovam esses lóbulos são pouco diferenciadas, e dotadas de reduzida capacidade de reparos do DNA. O desenvolvimento epitelial máximo é atingido na gravidez, e vem acompanhado de transformações estruturais e genéticas aparentemente definitivas. Estudando espécimes de mamoplastias redutoras realizadas em mulheres múltiparas e nulíparas, Ballogh, Russo e cols (2007), identificaram genes ligados à imunidade, morte celular programada e reparos do DNA, em maior concentração e maior viabilidade dentre as primeiras. Nas múltiparas na peri-menopausa, predominam lóbulos dos tipos 2 e 3, com capacidade proliferativa e

potencial de malignização, muito menores. Se atingido o grau completo (“final”) de desenvolvimento mediante gestações e amamentações prolongadas, há importantes modificações, com predomínio de lóbulos do tipo 4, ainda mais resistentes aos processos de cancerização (BALLOGH, RUSSO et al, 2007).

Cessado o estímulo hormonal fisiológico, na menopausa tardia, observam-se progressivas alterações. E tanto em múltiparas quanto em nuligestas, há um retorno à situação de predomínio de lóbulos do tipo 1. Apesar da similaridade na composição do componente lobular na menopausa, há diferenças no potencial biológico dos mesmos, uma vez que, o grau máximo de diferenciação atingido durante as gestações, modifica a “assinatura genômica” das células-tronco do epitélio, que evoluiriam de tipo 1 para tipo 2, nas mulheres que gestaram e amamentaram. Essas células-tronco tipo 2 são imunes a agentes carcinogênicos, por disporem de alta capacidade de reparo do DNA, estrutura de cromatina diferenciada com repercussões em ativadores e coativadores da transcrição genética, além de eficiente controle da apoptose (RUSSO et al 2006).

As questões envolvendo paridade e amamentação, bem como outros aspectos hormonais incluindo a idade da menarca, se tornam mais complexas quando se considera os diferentes subtipos de carcinoma mamário; e nesse aspecto há tendências a se considerar como em situações opostas, os tumores receptores hormonal positivos, daqueles receptores negativos. Anderson e colaboradores (2014), publicaram revisão da literatura correlacionando os elementos reprodutivos com três subtipos tumorais: Receptores positivos, Her 2 super expresso e Triplo negativos. Identificaram associações consistentes apenas com os hormônio-receptor positivos. Relataram que: a nuliparidade, o amplo intervalo entre a menarca e a primeira gravidez, bem como a reposição hormonal pós menopausa constituiriam os fatores de risco mais importantes. A Menarca precoce e primiparidade idosa, constituiriam aumentos moderados de risco. Consideraram as amamentações inversamente associadas ao surgimento de tumores receptor positivos e, encontraram associações menos consistentes, embora assemelhadas, nos Triplo- negativos. Dentre esses últimos, o fator de proteção mais importante foi exatamente a amamentação prolongada. Quando enfocaram os tumores HER-2 super-expresso, encontraram associações aos fatores reprodutivos ainda menos significativas, mas os dados

disponíveis na literatura, são pouco conclusivos nesse particular (ANDERSON et al, 2014).

A frequência muito menor dos tumores receptor negativos e a sua heterogeneidade, dificultam os estudos e retardam conclusões. Mas o fato de, incidirem muito mais durante o período reprodutivo e de maturidade hormonal, sugere que esse grupo tumoral também tenha associação, ainda que menos estreita, aos hormônios gonadais (RITTE et al, 2013).

O efeito protetor será mais intenso, se a primeira gestação ocorrer antes dos 24 anos, idade referência na redução de risco para câncer mamário. Nesses casos espera-se inclusive proteção contra a ocorrência de subtipos tumorais mais agressivos, como os tumores Triplo- Negativos (YANG et al 2011).

1.7.5 - As células basais e improváveis correlações com os TTN:

Os estratos celulares luminal e mioepitelial (ou basal), são interdependentes em função e desenvolvimento, bem como em relação à membrana basal e ao mesênquima subjacentes. As células luminais mereceram maior atenção a princípio, porque 75 a 80% dos tumores ali se instalam; pesquisas posteriores vieram sublinhar o importante papel das células mioepiteliais na manutenção da estrutura do epitélio sadio, e no eventual desenvolvimento do câncer (POLIAK e HU, 2005).

Um fato aceito pela maioria dos autores, é que os dois tipos celulares que se superpõem no epitélio, têm origem única. A renovação cíclica e contínua dessas camadas a cada ciclo mamário e menstrual, bem como a maciça proliferação na gravidez e amamentação, são propiciadas por um único tipo de célula tronco denominada “breast epitelial precursor”. Essas unidades precursoras localizam-se no compartimento luminal, o que traz ao epitélio mamário a singularidade de renovar-se no sentido apical-basal, diferentemente da maioria dos congêneres. O esquema de neoformação celular proposto por Smith e colaboradores, identifica um grupo primordial de células tronco apicais, chamadas de progenitoras de primeiro grau (“small light cells”), que evoluem para um estágio ainda indiferenciado, mas capaz de dar origem a outros tipos, denominado de progenitoras do segundo grau (“undifferentiated large light cells”). Essas aumentam de tamanho e começam a

expressar marcadores proteicos que espelham suas potencialidades de multiplicação e controle tissular, bem como as afinidades por um subtipo específico. Supõe-se que esses grupos inicialmente formados, permaneçam ainda em repouso na condição de células pré-luminais e pré-mioepiteliais, e que passem a suprir os estratos luminal ou basal na medida das necessidades funcionais, enquanto completam a sua diferenciação. Smalley e colaboradores (2007) sugeriram modelo semelhante, demonstrando que as células mioepiteliais derivam de um clone único de luminais precursoras, capazes de dar origem às demais. Uma parte irá progressivamente adquirir marcadores de células basais, e nesse sentido evoluir. Outros estudos baseados em cultura de tecidos confirmaram que as células tronco do tecido mamário residem no compartimento luminal; e que células luminais dão origem às mioepiteliais (GUDJONSSON et al, 2005; MOLYNEUX, REAGAN e SMALLEY, 2007).

Como dito, as células basais, ou mioepiteliais garantem a polaridade do epitélio, e para tal se dispõem nas diferentes partes da glândula mamária, de forma igualmente variada. Nos ductos assumem a forma de fusos e se dispõem paralelamente à luz dos mesmos; separam nessas unidades, o epitélio do mesênquima. Nas junções dos ductos com a rede canalicular dos lóbulos (unidades ducto-lobulares terminais, UDLT) têm a forma estrelada, se dispondo em torno dos ácinos qual uma cesta, ou rede, cujas malhas permitem o contato direto das células luminais com a membrana basal, fato que explica em parte, as diferenças na histopatologia dos cânceres ductal e lobular. O mais relevante é o fato que esse estrato de células funciona como um sistema bloqueador de proliferação epitelial excessiva, capacidade essa ligada a proteínas específicas, ou marcadores, dentre os quais destaca-se a Laminina⁸.

A maioria dos tumores primários se caracteriza por uma multiplicação excessiva e desordenada de células luminais, sendo que a princípio as mioepiteliais tendem a proliferar e envolver esses maciços celulares aparentemente bloqueando-

⁸ O carcinoma lobular infiltrante (ILC) é o segundo mais comum dos cânceres mamários do tipo não especial. A maioria desses tumores são de baixo grau histológico, expressam receptores hormonais e não expressam HER2. São Luminais. Há entretanto um subtipo de carcinomas lobular denominado "pleomórfico", que pode assumir o perfil HER2 ou apócrino (WEIGELT et al, 2010).

A desconexão estroma-epitélio que ocorre nos carcinomas lobulares, modifica a sinalização hormonal e o padrão de crescimento tumoral, sugerindo que essa particularidade entre o "feedback" peri-tumoral e a sinalização reduziriam os efeitos tanto das drogas antimetabólicas quanto citotóxicas em tais tumores. Daí a cautela em se indicar esquemas adjuvantes iguais para ILC e IDC (WONG et al, 2014).

os; para num segundo momento irem desaparecendo. Essa morfologia é claramente observada nos carcinomas intraductais, nos quais as células mioepiteliais e a membrana basal permanecem íntegras, desaparecendo quando evoluem para carcinomas invasores (POLYAC e HU, 2005; BARKSKY e CARLIN, 2006).

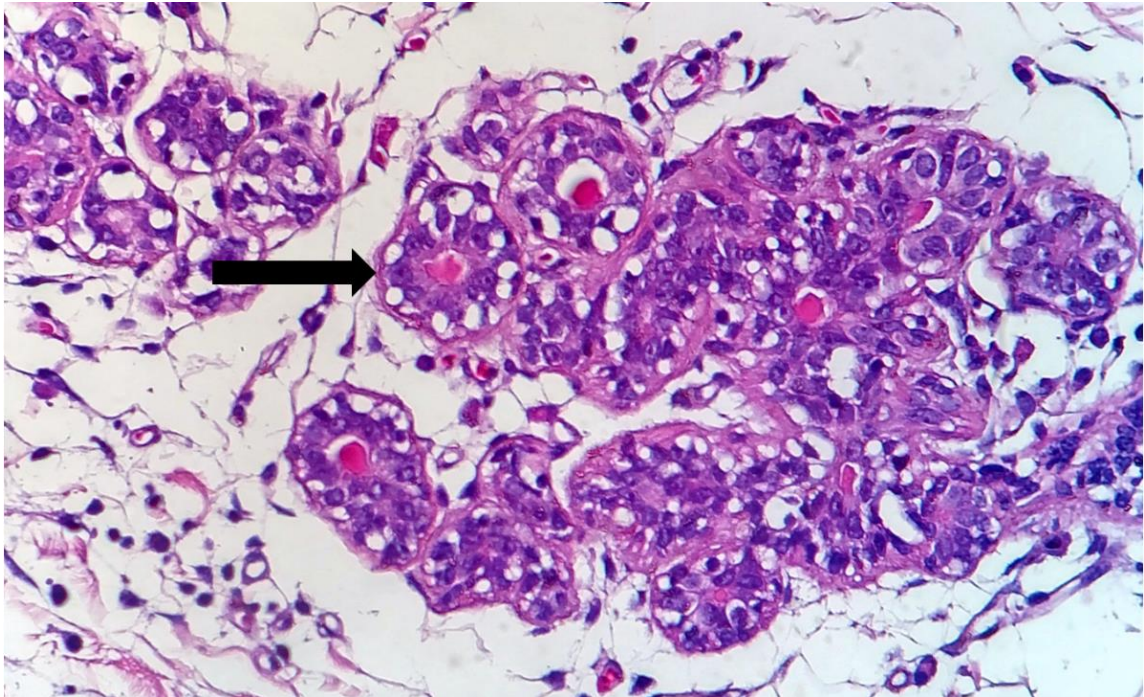


FIGURA 3 - Células mioepiteliais (seta) envolvendo lóbulos normais

Cortesia: Unidade de Laboratório de Anatomia Patológica do Hosp. Universitário UFJF
Dr Leonardo Jardim Gripp e Dr^a Louise Gracielle de Melo e Costa

Muitos outros marcadores caracterizam essas células basais. As citoqueratinas (CK) de alto peso molecular: CK 5 e 6; CK 14 e CK 17. Os marcadores de musculatura lisa: actina de músculo liso (SMA) e miosina; e fibronectina, colágeno 4, outras lamininas bioativas, alfa integrinas e B4, que propiciam a formação da membrana basal. Cada um dos antígenos com sua função específica. A CK 5 promove a atividade parácrina ou justácrina, garantindo a conexão de células vizinhas; a CK 14 é responsável pela conexão com as células da membrana basal. Proteínas supressoras como a P63, P73, 14-3-3 *sigma*, têm atividade sinérgica à principal molécula de adesão célula – célula que é a E-Caderina. Regulada pelo gene NF-2, a E-Caderina rege um importante sistema cálcio-dependente denominado Sistema Juncional Apical, que reduz a mobilidade das células, bloqueia a infiltração dos tecidos e impulsiona a

diferenciação celular. A inativação desse sistema predispõe à maior motilidade, plasticidade e pleomorfismo, dando aos clones celulares características fibroelásticas, invasividade e capacidade de metastatização. Esses eventos caracterizados pela desorganização dos contatos célula a célula, aumento da motilidade e tendência infiltrativa, constituem um processo morfogênico complexo, denominado Transição Epitélio Mesequimal (TEM). A princípio estudado em tecidos embrionários e de regeneração, o processo é atualmente identificado na origem de várias linhagens tumorais inclusive mamárias (DICKSON e RUSSO, 2002; CHAO et al, 2010; PANDEY et al, 2011)

Característica igualmente importante das células basais é a reconhecida ausência dos receptores hormonais: RE e RP. Como os TTN também se caracterizam por não expressarem RH, essa semelhança sugeriu a princípio, sua hipotética origem e correlação com as mesmas. Esta origem não se confirma, uma vez que as células basais derivam do compartimento luminal, como repetidamente mencionado; e enquanto sadias e estáveis, têm função protetora muito maior que os demais elementos do epitélio. As evidências da origem única e luminal de ambos os tipos celulares, a transformação de células-tronco originais em tronco-tumorais no longo processo de cancerização, também contradizem tal suposição. Em 2010 Molineux et al demonstraram que a deleção do gene BRCA1 nas células progenitoras do epitélio luminal mamário de camundongos, produz tumores com o fenótipo basal, reafirmando que a maioria dos tumores BRCA1 associados, bem como os cânceres “Basal-like” esporádicos humanos, se originam nas células progenitoras do epitélio luminal, e não na camada basal (MOLINEUX, REAGAN e SMALLEY, 2007; FOULKES et al, 2010; MOLYNEUX et al, 2010).

1.7.6 - As células-tronco tumorais e a formação de tumores mamários:

Todos os tecidos do corpo possuem células-tronco que são responsáveis pela renovação permanente dos mesmos. O que as caracteriza é a capacidade de gerar unidades idênticas a si mesmas, para manter um compartimento ativo de células progenitoras, e dar origem a células-irmãs, que evoluirão e se diferenciarão para

constituir as unidades maduras e funcionais de cada órgão. Essas últimas, destinadas a constituir a porção especializada e fisiologicamente ativa, sofrerão sucessivas divisões. São denominadas progenitoras em trânsito, ou células em trânsito amplificadas. Há genes específicos que mantêm estrito controle sobre essas células e garantem a estabilidade dos tecidos. Se há necessidade de reparo dos mesmos, a proliferação celular se faz necessária; de forma programada e previsível. As células-tronco são muito resistentes a danos tóxicos, calor e a outros tipos de “stress”, o que garante a sua regeneração, mesmo nessas condições. Tendem a permanecer presentes por longos períodos, o que as faz mais susceptíveis a mutações genéticas e epigenéticas (MOLYNEUX, REAGAN e SMALLEY 2007; CARIATI e PURUSHOTHAN, 2008)

Ao que tudo indica, as células-tronco normais, sofrendo mutações genéticas e epigenéticas suficientes, evoluem à condição de células-tronco tumorais. Duas teorias concorrem para explicar o surgimento de tumores a partir das mesmas:

A primeira, aceita como menos provável, propõe que as mutações atinjam especificamente uma, ou um pequeno número de células-tronco normais, que se tornariam imortais e independentes do nicho celular do qual se originaram. E ocorreria a expansão desordenada desse clone celular primitivo, ou do compartimento de células tronco tumorais indiferenciadas.

A segunda proposição sugere que os danos culminem em células amplificadas (progenitoras em trânsito). Seriam unidades celulares já diferenciadas e a caminho da completa maturação, que passariam a funcionar como células-tronco tumorais. Promoveriam nesse caso a proliferação contínua, dando origem a neoplasias com certo grau de maturação. E permaneceriam a partir de então, dotadas de características de células-tronco tumorais, principalmente a imortalidade (CARIATI & PURUSHOTHAM, 2008; HANAHAN e WEIMBERG, 2011).

Estudos em cultura de tecidos visando identificar as células-tronco de cada estrato mamário, utilizam antígenos específicos dos mesmos, como o ESA (“epithelial specific antigen”) e MUC 1 (mucina 1), marcadores luminais. Bem como as metaloproteinases CD 10⁹, típicas das células basais. Em células humanas foram

⁹ O prefixo “CD” utilizado na denominação de linhagens celulares significa “Cluster of Differentiation” e se refere à moléculas de superfície celular expressas em leucócitos e outras células

identificados dois subgrupos de células-tronco epiteliais: um mais amplo, ESA + MUC 1+, que cultivado dá origem exclusivamente à células luminais; e, outro subgrupo bem mais restrito, ESA+ MUC 1- (CK19+), que dá origem a células mioepiteliais. Esse segundo grupo é capaz de formar estruturas ramificadas semelhantes às UDLT, sendo considerado precursor das mesmas (CARIATI e PURUSHOTHAM, 2008; ZANETTI et al, 2011).

Esses e muitos ensaios comprovam na prática a existência das células-tronco tumorais, derivadas de congêneres sadias, que submetidas a agressões repetidas, congênitas ou adquiridas (ambientais), se configuram como iniciadoras e promotoras da carcinogênese. Al Hajj e cols (2003) descreveram linhagem celular caracterizada pela presença ou ausência dos marcadores de membrana CD 44 e CD 24, que foram posteriormente confirmadas em diversos outros trabalhos. Essas células tronco CD44+/CD24- demonstraram “in vitro”, alta capacidade de formar tumores, e se manterem imortais. “In vivo”, se relacionam a cânceres com alta frequência de metástases, menores sobrevidas livres de doença e sobrevidas totais. Tumores ricos em células CD44+ tendem a evoluções piores e são caracterizados pela ativação do fator transformador do crescimento epitelial TGF β . (CARIATI & PRUSHOTAM 2008; TIEZZI et al, 2012).

Ercan e colaboradores (2011) comentaram as vias fisiológicas da homeostase dos tecidos mamários e, sua eventual transformação em patológicas, na dependência das mutações oncogênicas. As quais tenderiam a se acumular nessas células tronco, devida à sua longevidade como acima dito, e a capacidade para indefinidas proliferações. Deram importância especial às mutações do sistema “Notch” de renovação celular, que dentre outros, atua na regulação célula a célula e no núcleo, interferindo nos mecanismos de transcrição, ativando genes específicos envolvidos em crescimento, proliferação, diferenciação e sobrevida das células. O “Notch system” parece ser um dos mais importantes mecanismos de definição do destino das células, ou seja, o caminho que deverão trilhar: de divisão controlada ou multiplicação anárquica. É dividido em subsistemas que estariam por sua vez ligados a: tumores indiferenciados (“Notch 1”), ou de arquitetura preservada (“Notch 2”); e outros.

relevantes para o sistema imune. Há mais de 400 moléculas já descritas nesses grupamentos de diferenciação que permitem classificar e pesquisar a função específica das mesmas (Engel et al, 2015).

Outrossim, vem adquirindo maior relevância pela possibilidade de permitir terapias-alvo, mediante o desenvolvimento já em curso, de drogas inibidoras de sistemas “Notch- aberrantes” (ERCAN et al, 2011).

Os clones celulares que iniciaram a sua diferenciação e delinearam as suas características e vocações, mas tiveram sua trajetória modificada no sentido da proliferação desordenada e persistente, dão origem a tumores de fácil classificação, vez que exprimem as características do tecido que lhes deu origem, em grau menor ou maior. Em geral nos tumores luminais a arquitetura epitelial tende a estar presente e, as células mioepiteliais ainda competentes, envolvem os maciços celulares e estruturas ductais residuais (Figuras 3 e 4). À medida que o processo tumoral se torna mais grave, tende a impedir a diferenciação da linhagem celular subsequente ou seja, das células mioepiteliais. Desaparecem progressivamente os elementos estruturais; a arquitetura do tecido não é mais perceptível (figura 5). As células se tornam cada vez mais pleomórficas, as bordas tumorais indefinidas ou digitiformes, com necrose central; aspectos descritos nos tumores Triplo Negativo (BADVE et al, 2011).

Em sua maioria esses tumores passam a expressar citoqueratinas basais, de alto peso molecular, mas possivelmente nem todas. Ou ainda se presentes, inativas. O que denota a paulatina inativação dos sistemas protetores do epitélio mamário, como é o caso dos sistemas desmossômicos (célula a célula) mediados pela E-caderina. Com a consequente liberação de fatores de crescimento epitelial das famílias EGF (“Epithelial Growth Factor”), SGF e outras similaridades fenotípicas às células mioepiteliais. As quais, destituídas de suas vocações primordiais condicionariam um comportamento tecidual completamente diverso. Outras mutações genéticas poderão se associar, como a mutação dos oncogenes BRCA 1 e BRCA 2, acentuando progressivamente os graus de anaplasia e indiferenciação (BADVE et al, 2011).

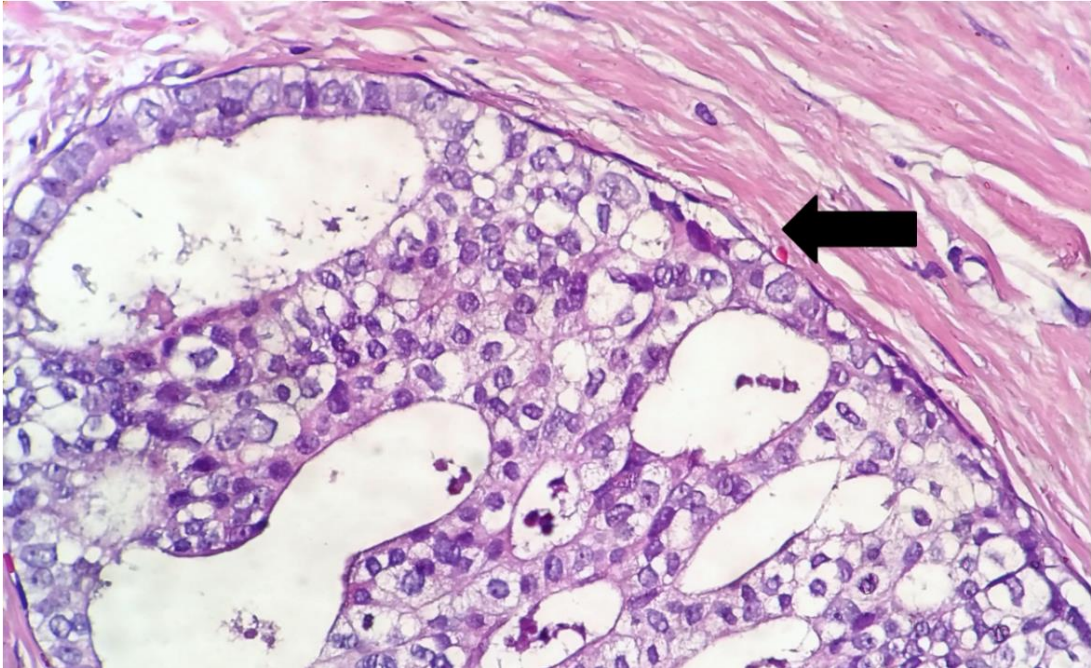


FIGURA 4 - Carcinoma intraductal: camada basal íntegra (seta)
(Arquitetura ainda preservada)

Cortesia: Unidade de Laboratório de Anatomia Patológica do Hosp. Universitário UFJF
Dr Leonardo Jardim Gripp e Dr^a Louise Gracielle de Melo e Costa

Tudo leva a crer que os tumores basalóides, assim como a maioria dos Triplo negativos, representam o espectro final de uma evolução. Na qual diferentes fenótipos tumorais, inclusive luminais, identificáveis ou não, constituiriam etapas intermediárias (MOLYNEUX, REAGAN e SMALLEY 2007; BADVE et al,2011).

Mesmo partindo de origem única, caso as mutações e danos celulares se adicionem a ponto de impedir totalmente a diferenciação, serão constituídos maciços celulares sem qualquer característica que os relacione a demais subgrupos tumorais. Serão tumores inclassificáveis, negativos para a maioria ou totalidade dos marcadores moleculares. Em geral essas neoplasias são muito agressivas e, não por acaso, surgem em mulheres mais jovens, com história familiar positiva e presumíveis distúrbios precoces, já na organogênese mamária (Da SILVA et al, 2007).

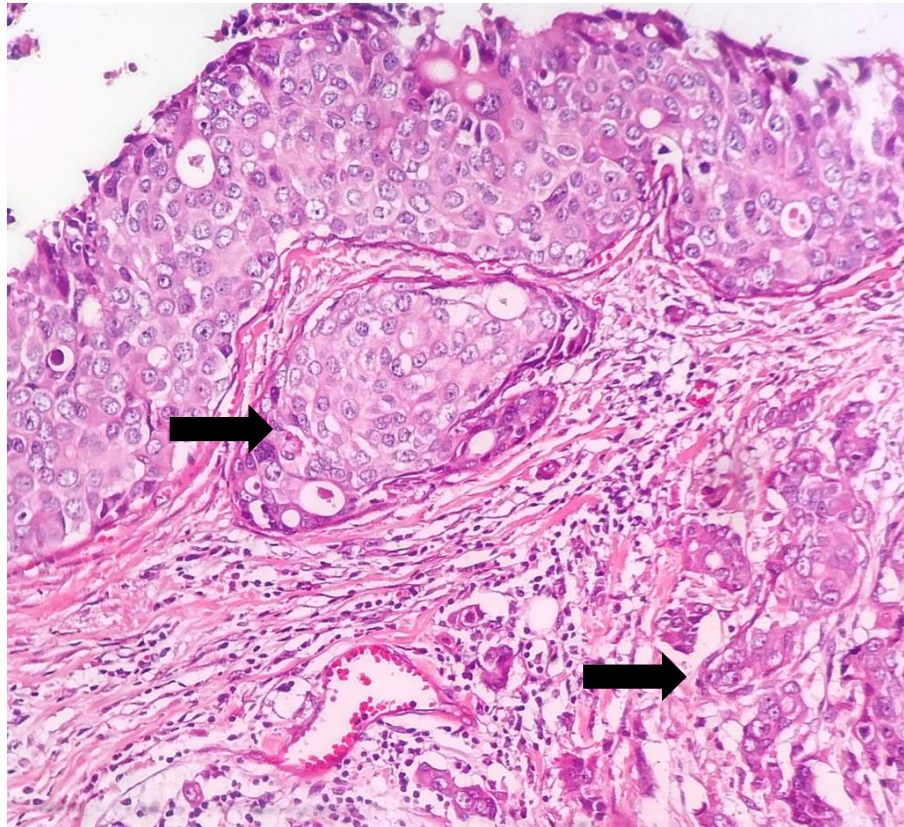


FIGURA 5 - Porção superior: Carcinoma intra ductal. Porção inferior Carcinoma invasivo: desaparecimento dos elementos estruturais; maciços celulares atípicos invadindo o estroma
Anatomia Patológica do HU-UFJF. Dr Leonardo Jardim Gripp e Dr^a Louise Gracielle de Melo e Costa

1.7.7 - Tumores Triplo Negativo e correlação com tumores basais:

A carcinogênese acima descrita envolve múltiplos mecanismos, com repercussões em aspectos morfológicos, genéticos e moleculares, os quais permitem muitas descrições e denominações, que não raro se superpõem. No que toca aos Triplo Negativos, esses fatos são facilmente percebidos. O termo se refere tão somente à ausência dos receptores hormonais e do antígeno HER 2, mas muitas neoplasias se encaixam nessas condições, embora englobem outros aspectos que determinem de forma mais marcante a sua evolução. É o caso dos tumores “basal-like”, ou simplesmente tumores basais. Sua caracterização precede aos tumores triplo negativos, uma vez que em trabalhos da década de 90 foram identificadas nas células tumorais, proteínas e marcadores semelhantes aos encontrados nas camadas basais do epitélio. E uma maior gravidade, a princípio não bem explicada. Dessa semelhança com as células basais surgiu a denominação “basal-like”.

Nesses primeiros estudos foram utilizados principalmente anticorpos monoclonais; e foram identificadas citoqueratinas de alto peso molecular, como as CK 4, 14 e 17, por Malzham (1998), ou 5, 6 e 17 por van de Riin (2002). Quase sempre em tumores indiferenciados (Grau 3), que tiveram evoluções piores, mesmo se diagnosticados em fases iniciais. Em sua quase totalidade essas neoplasias também não expressavam os RH e o HER2. A denominação “basal-like tumors” foi universalizada após os trabalhos de Perou e seu grupo em 2000 (MALZHAM et al, 1998; PEROU et al, 2000; van de RIIN et al, 2002).

Tumores “Basal Like” têm como característica fundamental o elevado índice mitótico, com altas taxas de divisão celular. Há marcante pleomorfismo e alta relação núcleo-citoplasmática, porção central do tumor com muita necrose e bordas digitiformes, que se estendem sobre os tecidos circunjacentes, acompanhadas de infiltrado linfocítico intenso. Do ponto de vista molecular e genético, há a ausência ou baixa expressão dos receptores hormonais, baixa prevalência do antígeno HER 2, expressão e super expressão de genes usualmente encontrados no estrato basal do epitélio (BANERJEE et al, 2006; Da SILVA et al, 2007).

A primeira menção aos Triplo Negativos é posterior; e data de 2005. Sob essa denominação se reúne como foi dito, um grande e heterogêneo grupo de patologias, não raro instáveis e inter-conversíveis (“overlapping”); que vão sendo descritas à medida que novos genes ou marcadores moleculares venham sendo identificados ((FOULKES et al, 2010).

Há grandes semelhanças entre os “Basal Like” e os TTN. Os dois subtipos tendem a acometer pacientes mais jovens, com menos de 50 anos, negras ou afro-descendentes, e serem cânceres de intervalo. A evolução obedece a um padrão semelhante, com maior agressividade manifesta nos três a cinco anos após o diagnóstico, e sobrevidas global e livre de doença inferiores às dos demais subgrupos. A proporção de Triplo Negativos que são concomitantemente basais, é alta e varia segundo os autores. Bertucci e colaboradores (2008) demonstraram 71%, mediante o uso de expressão gênica. E que reciprocamente, 77% dos basais eram TTN, se utilizada a imunoistoquímica (BERTUCCI et al, 2008). De Brot e colaboradores (2009), encontraram 75% de carcinomas basais num total de 140 mulheres brasileiras, portadoras de TTN; e ressaltaram a importância da diferenciação (De BROT et al,

2009). Nos estudos de Lehmann e seu grupo (2011), foram identificados por expressão gênica, 47% de Triplo Negativos basais, já que esses autores se preocuparam em descrever uma expressiva parcela de Triplo Negativos classificáveis em outros subgrupos. De fato, quando são utilizadas plataformas genéticas, as diferenças se mostram, e 8 a 29% dos TTN não se enquadram nos padrões de tumores basais, bem como 18 a 40% dos basais não são classificáveis como TTN (LEHMANN et al, 2011).

Acrescente-se a correlação bem aceita entre os tumores basais e os que carregam mutações do gene BRCA1. A maioria das neoplasias que expressa a metilação e a inativação desse gene no seu desenvolvimento, sobretudo antes dos 50 anos, demonstra aspectos morfológicos semelhantes aos descritos nos tumores basais, e isso é percebido tanto pela análise imunoistoquímica quanto pelos métodos genéticos (BADVE et al, 2011). Essa mutação deletéria do gene de suscetibilidade BRCA 1 é vista como um aspecto hereditário não obrigatório, que tanto ocorre em TTN quanto em tumores basais (FOULKES et al, 2010). No “Breast Cancer Linkage Consortium” há a sugestão que, em pacientes com morfologia compatível, negatividade para receptores hormonais, e positividade para citoqueratinas basais, sejam oferecidos os exames do gene citado (Da SILVA et al, 2007).

Como as diferenças impliquem mais em aspectos prognósticos, com poucas repercussões na clínica diária, há autores que consideram os dois subtipos como iguais ou muito semelhantes, inclusive devido à frequência com que se relacionam ou intercambiam; e dão menor valor prático a essa distinção (DENT et al, 2007; BADVE et al, 2011; EISEMBERG et al, 2013).

1.7.8 - Subdivisão dos Triplo negativos:

A ampla heterogeneidade dos TTN, bem como as repercussões desse polimorfismo no prognóstico e na predição terapêutica, determinou a subdivisão do perfil em subgrupos, na tentativa de obtenção de um mínimo de uniformidade, que auxiliasse no estabelecimento de rotinas terapêuticas. Nesse sentido Lehmann e colaboradores (2011), já acima citados, sugeriram a divisão dos Triplo Negativos em seis subclasses:

- Tumores “Basal Like” I e II
- Imunomoduladores
- Mesenquimais
- Mesenquimais de células-tronco
- Luminais androgênio-receptores.

Entretanto ressaltaram que, duas linhagens celulares predominantes se alternam na constituição dessas neoplasias:

- Células do Grupo A: que mantêm características do tecido epitelial, e constituem os “Basal Like”. Frequentemente se mostram relacionadas à mutações do gene BRCA1.
- Células do Grupo B: que têm características do tecido conjuntivo e de células tronco; predominando nos subtipos mesenquimais.

Conforme antes mencionado, os “Basal-Like” I e II, são Triplo Negativos que demonstram alta expressão de genes do ciclo celular, o que condiciona por sua vez índices elevados de Ki 67, citoqueratinas basais, e genes com danos ao DNA, o que indicaria uma boa resposta terapêutica à quimioterapia, e em especial à cisplatina. Os “Basal-Like” II, além da alta celularidade e das CK referidas, se relacionam forma estreita aos fatores locais de crescimento epidérmico: EGF, NGF, IGFR 1 e beta-catenina. São mais claramente relacionados à origem basal / mioepitelial.

Frequentemente são feitas menções na literatura do fenótipo basal puro, ou “core basal phenotype”. São situações que se enquadram na descrição anterior, e especificamente se caracterizam por serem negativas para os três marcadores e, expressar a CK 5/6, bem como o fator epidérmico de crescimento (EGFR).

Os mesenquimais e mesenquimais de células tronco se relacionam às células tronco tumorais e ao já referido fenômeno de transição epitélio - mesenquimal, caracterizado pela tendência de células originalmente epiteliais, adquirirem plasticidade e mobilidade, com aspectos e ações semelhantes às do tecido conjuntivo e de defesa. Para tal expressam em menor quantidade genes de adesão celular, como os da E-caderina; e em maior proporção, genes dos fatores locais de crescimento, β - catenin dentre outros. A patogênese desses tumores permite o surgimento de

neoplasias com aspectos sarcomatosos, constituídas por células fusiformes e áreas de metaplasia apócrina. Dentre os quais um subtipo altamente diferenciado e resistente à quimioterapia, que tende a piores evoluções, denominado carcinoma metaplásico (LEHMANN et al, 2011).

As descrições e denominações dos mesenquimais são variadas, e a diferenciação entre eles as vezes parece sutil, mas tem importância porque explica evoluções diversas e respostas terapêuticas igualmente diferentes. Exemplificam o fato, os tumores medulares, morfológicamente relacionados aos mesenquimais, mas que clinicamente se mostram bem circunscritos, móveis, semelhantes às patologias benignas. E histologicamente compostos por grupos coalescentes de células indiferenciadas com alto grau nuclear, que “empurram” os tecidos circunjacentes sem invadi-los; e intenso infiltrado linfocitário. Nesse caso o prognóstico em geral é bom, mas se surgem atipias o comportamento muda e ocorrem casos de evolução rápida. Dificulta também a caracterização dos mesenquimais, a instabilidade genômica, e por consequência a instabilidade fenotípica, que frequentemente demonstram. Os imunomoduladores se intercambiam em medulares e vice e versa; os mesenquimais e mesenquimais de células-tronco com metaplásicos; e os luminais androgênio-receptores com os apócrinos (BIANCHINI et al, 2016).

Há outro subgrupo cuja descrição é semelhante à dos mesenquimais de células-tronco, referido por Prat e colaboradores (2010), denominado “claudin-low subtype”, que conforme o nome, se caracteriza pela baixa expressão de claudinas. Estas são proteínas que atuam na adesão célula- a- célula, muito própria dos tecidos de revestimento, como o epitelial. Os “claudin-low” são Triplo Negativos e, frequentemente medulares ou metaplásicos. Ao contrário dos tumores basais demonstram baixa expressão de genes ligados à proliferação celular, e predomínio dos genes de resposta imunológica e produção de linfócitos granulócitos, bem como de fatores de transição epitelial. Células ricas em CD44 e pobres em CD24 enriquecem esses tumores, que por terem baixa celularidade respondem mal a quimioterapia (PRAT et al, 2010).

Cumprir mencionar os tumores androgênio-receptores, que são neoplasias de células luminais que não apresentam RE, RP e nem Her2, sendo assim triplo negativas. Expressam receptores de androgênios. Estes, por sua vez, predominam

nos subtipos luminais puros, e pouco se manifestam em TTN, mas eventualmente ocorrem; e sua presença muda a natureza da doença e exige abordagem terapêutica específica. Zhang e colaboradores publicaram em 2015, meta - análise chamando a atenção para os receptores androgênicos, que juntamente com os EGFR e o gene BRCA1, funcionariam como novos marcadores e orientadores de possíveis tratamentos-alvo. Essas neoplasias têm menor tendência à metastatização e maiores sobrevidas, configurando um subtipo especial de melhor prognóstico (ZHANG et al, 2015).

As propostas de Lehmann e seu grupo representaram um avanço porque separaram patologias biologicamente distintas, grupadas sob denominação única de “Tumores Triplo Negativos”, a qual por si só, como acima explicado, não é capaz de resumir a amplitude do grupo. Os TTN em sua maioria são ductais infiltrantes, originários do revestimento das estruturas mamárias; portanto, neoplasias epiteliais. Diferem completamente das linhagens sarcomatosas que derivam do fenômeno de transição epitélio mesenquimal. E de metaplasias, ou de neoplasias derivadas de células tronco indiferenciadas, oriundas de vias oncogênicas diversas, conforme sugerido por Molyneux, Reagan e Smalley, em 2007. Os tumores androgênio-receptores, também epiteliais e luminais, teriam outro comportamento, regido pela dependência androgênica, embora não divergissem dos basais em termos de histologia. São todos Triplo negativos quando avaliados pela imunistoquímica, e assemelhados quanto aos métodos genômicos, mas com histogênias, evoluções e necessidades terapêuticas diversas.

A completa sistematização dos Triplo negativos parece requerer estudos mais amplos, e métodos de caracterização tumoral que considerem a morfologia, a histofisiologia, o amplo campo genômico-transcricional e o relacionamento, ou as inúmeras interfaces que derivem dessas correlações. Montagna e colaboradores (2013), descreveram a evolução dos TTN levando em consideração dois aspectos fundamentais:

1. A heterogeneidade (exposta em todos os trabalhos que abordam o assunto, mas bem exemplificada na tríade de situações acima referida: TTN “clássicos” ou basais, X TTN mesenquimais, X TTN androgênio-dependentes)

2. As diferenças histopatológicas dentro do mesmo perfil.

Relataram que, dentre 781 tumores Triplo negativos acompanhados em média por 5,7 anos, no Instituto Europeu de Oncologia em Milão (Itália), detectaram 693 (89%) ductais infiltrantes do tipo não especial, 29 (3,7%) apócrinos (semelhantes aos “claudin-low”), 18 (2,3%) lobulares, 10 (1,2%) adenóides císticos e 10 (1,2%) metaplásicos (mesenquimais).

Relataram sobrevidas livres de doença (SLD) e sobrevidas globais (SG) diversas para esses subgrupos histológicos de TTN, tratados da mesma forma:

- Ductais infiltrantes não especiais: 77% de SLD e 84% de SG
- Metaplásicos: 56% de SLD e 89% de SG
- Adenóides císticos e medulares: 100% de SLD e 100% de SG

Chamaram a atenção para a disparidade de eventos dentre diferentes tipos histológicos de um mesmo perfil molecular (56% x 100%), e ponderaram sobre a necessidade de se identificarem os casos de bom e mal prognóstico. Sugeriram para os primeiros (medulares e adenóides císticos) o não uso de quimioterapia, se em axilas livres. No outro extremo, os metaplásicos, que são menos comuns, estão ainda na dependência de novas drogas que superem a resistência à QT. E concluíram que: distintas implicações prognósticas derivam do tipo histológico específico, independentemente do perfil molecular ou genético; e que essa classificação histológica deve fazer parte do algoritmo terapêutico (MONTAGNA et al, 2013).

Também visando separar, quanto à evolução e resposta terapêutica, os diferentes TTN, foram desenvolvidos trabalhos para a identificação dos tumores de alto e baixo grau. Geyer e colaboradores em 2017, denominaram de “doença triplo negativa”, a um amplo espectro de situações que vão desde lesões pré-malignas nitidamente relacionadas aos Triplo Negativos, até neoplasias de alta gravidade, e prognóstico sabidamente ruim. Enfocaram principalmente o baixo grau, que englobaria dois subgrupos:

- Uma “família” de precursores não obrigatórios dos TTN, portadores do complexo panorama genômico dos mesmos, principalmente as

inativações dos genes P53 e PI3K, mas com um potencial de malignidade muito limitado. Podem evoluir a tumores de alto grau.

- Os tumores de mama assemelhados aos de glândulas salivares, que são Triplo negativos, e não expressam o genoma destes, mas se apoiam em fusões de genes e mutações parciais. São a princípio pouco agressivos; mas também com possibilidade de dar origem a TTN de alto grau.

Estabeleceram um paralelo entre os TTN de baixo e alto grau, estes últimos constituindo os TTN tradicionais; e como tal, neoplasias ductais infiltrantes de tipo não especial, pleomórficas, com índices mitóticos elevados, necrose central e infiltração linfocítica. Também de alto grau, alguns tumores do tipo especial: apócrinos, medulares, e de células acinares atípicos; metaplásicos, mucoepidermóides e outros, que têm evolução variável ou mesmo muito ruim. Todos geneticamente classificáveis como Triplo Negativos, apesar das singularidades clínicas.

A subdivisão proposta por esse grupo de autores é muito ampla, e se inicia em lesões pré-malignas triplo negativas, que constituiriam a “família dos Triplo Negativos de baixo grau”. A adenose microglandular (MGA), evoluiria à adenose microglandular atípica (AMGA), daí a carcinomas acinares (ACC) e “carcinomas de baixo grau e boa evolução, não obstante o genoma de TTN”. Ainda dentre os TTN de baixo grau estariam os carcinomas mamários “salivar - like”, cuja histopatologia é idêntica aos carcinomas salivares, com genomas semelhantes aos mesmos e diferentes dos Triplo Negativos. Incluem nesse grupo os carcinomas secretores, antes chamados de carcinomas juvenis. Dão importância a todas essas formas raras, pelo fato de significarem fases não obrigatórias da “doença triplo negativa”, rumo à cancerização de alto grau.

Concluem que o termo Tumores Triplo Negativos é apenas operacional, e se refere a esse amplo espectro de situações que merecerão abordagens e tratamentos diversos. E que a morfologia das lesões continua sendo o parâmetro fundamental de avaliação (GEYER et al, 2017).

1.8 – Propostas Terapêuticas para os Tumores Triplo Negativos

1.8.1 - Os TTN e as categorias de risco:

A particularização dos casos de Tumores Triplo Negativos se faz necessária para o melhor tratamento. As ferramentas de avaliação que buscam predizer os riscos de recorrências, em face às propostas terapêuticas, se prestam à avaliação do câncer de mama como um todo, e principalmente às pacientes receptor de estrogênio positivas, com tumores iniciais. Como já dito auxiliam no dilema do super tratamento por um lado, contra a perda de oportunidade de ganhos terapêuticos do outro. O “Oncotype DX”, que parece ser o mais utilizado em nosso meio; o “HOX 13”, e mesmo o “Prosigna”, analisam tumores receptor de estrogênio positivos, quanto à conveniência de tratamentos complementares à hormonioterapia; ou da extensão desta por um tempo maior. O “Mammaprint” pode ser utilizado em tumores RE negativos, e constitui de fato um teste genômico de prognóstico, mais que de predição como os demais. Categoriza as pacientes em baixo e alto risco, de acordo com a chance de desenvolverem doença a distância em 10 anos. A limitação do uso parece ser a necessidade do tecido fresco; e do custo.

Nesse aspecto há pouco o que se aplique aos Tumores Triplo Negativos, embora a subdivisão istoquímica dos mesmos em epiteliais (basais), androgênio-dependentes e sarcomatosos, já constitua um norte terapêutico. A evolução e a resposta à quimioterapia desses últimos é sabidamente muito ruim, e os androgênio-dependentes, de melhor prognóstico, respondem a bloqueadores hormonais específicos.

Por outro lado, as decisões terapêuticas se baseiam na avaliação de outros fatores de risco como idade, tamanho do tumor, grau tumoral, estado das axilas, estado pré ou pós menopausa, e comorbidades. Fatores de enorme importância para tumores como os Triplo Negativos, em que os antígenos tumorais, ou o perfil genético que os caracterizam, ainda não constituem de fato, alvos para tratamentos definidos. Há metodologias de ampla utilidade e uso na particularização dos casos, e que consideram tais elementos clínicos na orientação terapêutica, como os programas:

“Adjuvant! Online”; “National Comprehensive Network Guidelines”; “St Gallen expert criteria”, dentre outros.

O “Nottingham Prognostic Index” tem importância especial, por ser um modelo clínico de avaliação do risco de morte por câncer de mama. Leva em consideração o tamanho do tumor, o estado axilar e o grau tumoral, para predição prognóstica e secundariamente terapêutica. Consiste de um valor numérico contínuo, que se calcula multiplicando-se o diâmetro tumoral por 0,2 e, adicionando-se o grau tumoral (1 a 3) e estado axilar também com valores de 1 a 3. Produtos finais de até 3,4 sugerem um bom prognóstico e baixo risco de morte; acima de 3,4 moderado, e acima de 5,4 um prognóstico pobre, ou ruim. Foi até certo ponto ignorado a princípio, como recurso de avaliação em TTN, porque se supunha que, o acometimento axilar nesses tumores era menos frequente que em outros perfis, suposição que não se confirmou na análise de séries maiores (BAUER et al, 2007; DENT et al 2007). Atualmente o NPI já é utilizado em Triplo Negativos (ALBERGARIA et al, 2011). O método sofreu progressivas modificações e atualmente há o denominado “NPI plus”, já citado, que além dos dados clínicos tradicionais, utiliza informações sobre o perfil molecular obtidas por IHQ, e calculadas num algoritmo que adiciona dados de 6 a 7 perfis tumorais para uma definição ainda mais acurada de risco (RAKHA et al, 2014). A maior complexidade do NPI Plus talvez o torne pouco aplicável no dia a dia, pelo custo e dificuldades de associação dos dados obtidos com os aspectos clínicos convencionais, mas em Tumores Triplo Negativos, carentes de métodos adequados de avaliação, talvez tenha um espaço maior.

Barrios, Buzaid, Rocha Cruz e Mayer, descrevem avaliações de risco utilizadas no Hospital São José em São Paulo, SP. Analisam a idade, o tamanho do tumor, características histológicas e o “Oncotype DX” para propor três categorias, aplicáveis a tumores infiltrantes do tipo não especial:

- Risco baixo (risco de morte inferior a 10%; sem necessidade de QT adjuvante): Consideram-se os receptores hormonais positivos associados a aspectos clínicos favoráveis; ou a ausência de fatores prognósticos adversos, dentre os quais os RH negativos. Não há como os TTN serem enquadrados nessa categoria.

- Risco intermediário (risco de morte entre 10 e 20%): Em duas das três situações descritas para essa categoria, os RH negativos significam aspecto adverso, e impedem a manutenção do caso nesse grupo. Na terceira situação passível de figurar como de risco intermediário, mencionam a necessidade de positividade dos RH. Da mesma forma, Tumores Triplo Negativos, independentemente de seu tipo histológico, tamanho ou idade da paciente, não serão considerados como de risco intermediário
- Risco alto (risco de morte superior a 20%): em duas das três possíveis situações delineadas, encontra-se o fator de prognóstico adverso, representado por receptores hormonais negativos. (BARRIOS et al, 2012)

Nessa classificação, todos os TTN serão considerados “a priori” de alto risco, e passíveis de tratamento quimioterápico.

Os autores acima ressaltam que a proposta é arbitrária e sujeita a críticas, mas é fato que, no caso dos TTN, essa classificação vem de encontro a inúmeras outras observações que consideram a quimioterapia a pedra angular da adjuvância para TTN, e o único recurso clínico confiável e reconhecido para tratá-los (BARRIOS et al, 2012; PALMA et al, 2015; OMARINI et al, 2018)

1.8.2 - Tratamento loco- regional:

O tratamento dos Triplo Negativos, não obstante a mencionada singularidade do perfil, segue em princípio as premissas clássicas para a abordagem do câncer de mama, lembradas na Reunião de Consenso de St Gallen de 2011. Leva em consideração a extensão da doença ao diagnóstico, aspectos da hospedeira, preferências e expectativas da mesma, e aspectos econômicos e sociais, aí incluindo os meios disponíveis de terapia. Reconhecendo-se a maior agressividade desses tumores e sabendo-se das recidivas mais frequentes e precoces, eram de se esperar

condutas mais agressivas, mas os trabalhos têm mostrado que os parâmetros tradicionais podem ser utilizados na seleção do tratamento loco-regional. A terapia sistêmica é que diferencia essa abordagem, das dos demais subtipos (GOLDHIRSCH et al, 2011).

Os TTN em geral são detectados com maiores tamanhos, e com alto grau histológico, e em pacientes mais jovens, fatos que agravam o prognóstico e poderiam favorecer a indicação de operações mais amplas. Não obrigatoriamente. Kim e colaboradores (2016), em análise retrospectiva de 1533 mulheres, Triplo Negativas (n= 321), e Não Triplo Negativas (n=1212), encontrou de fato, tumores T2 em 37,4% das TTN contra 21% das NTN; grau histológico elevado (III), muito superior nas primeiras, 66,8% X 15,4%, mas estadiamentos axilares menores: N0 em 86,9% “versus” 75,5% ($p < 0,001$). Todas as pacientes foram submetidas a cirurgias conservadoras, e não houve diferença nas taxas de sobrevida livre de doença entre os dois grupos. As Não Triplo Negativas tiveram um resultado discretamente superior em termos de sobrevida global em 5 anos, mas a diferença não foi significativa (96,2% X 97,3%; $p=0,72$). Na análise multivariada o perfil Triplo Negativo tratado conservadoramente, não se mostrou associado a piores evoluções em termos de SLD ou SG. Concluíram que as cirurgias conservadoras são perfeitamente adequadas para pacientes Triplo Negativas (KIM et al, 2016).

No mesmo sentido, Adkins et al (2011), analisaram 1325 casos com TTN, comparando mastectomias às cirurgias parciais, realizadas entre 1980 e 2011, no M.D. Anderson Cancer Center (Univ. do Texas, EUA). O tamanho médio dos tumores foi de 2,5 cm, e a maioria (89%) tinha grau nuclear III. 651 pacientes (49%) se submeteram a procedimentos conservadores e 674 (51%) à mastectomias. Comparando se nos dois grupos as recorrências locais em 62 meses, não houve diferença significativa: 30% no grupo de mastectomias e 26% nas cirurgias conservadoras ($p=0,10$), mas uma taxa mais alta de metástases a distância nas primeiras: 51% x 35% ($p < 0,0001$). A sobrevida global também foi superior para pacientes tratadas conservadoramente, sendo que ao final do seguimento 35% destas havia morrido, contra 50% do grupo de mastectomizadas ($p= 0,032$). Dentre as limitações do trabalho os autores comentam que, além do fato de o grupo selecionado para receber as mastectomias ser de doenças a princípio mais avançadas, o que

explicaria as piores evoluções, a maioria delas não recebeu radioterapia complementar, que foi utilizada naquelas submetidas às operações conservadoras. Questionam se, em se tratando de Triplo Negativas, com riscos maiores de recorrências e morte, a radioterapia não devesse ser utilizada rotineiramente, e sobretudo se axilas positivas; mesmo após cirurgias radicais, e em conformidade às ponderações de outros autores (CLARKE et al, 2005). Concluem que o perfil TTN não é por si só, indicação para intervenções agressivas, e que as taxas de recorrência local tendem a declinar, se novos mediadores moleculares forem melhor estudados e servirem de “alvos” para tratamentos mais eficazes (ADKINS et al, 2011).

A abordagem das axilas não é diferenciada em se tratando de Triplo Negativos. Há autores que relatam que o comprometimento axilar nesses tumores se mostra menos significativo que em outros perfis (SOUZA SILVA et al, 2015; KIM et al, 2016), mas há grandes séries em que essa particularidade não se confirmou (DENT et al, 2016) Em axilas clinicamente negativas, a realização do linfonodo sentinela se impõe, e a linfadenectomia completa será evitada caso se confirme a ausência de doença. Ou mesmo em caso de comprometimento de um ou dois linfonodos sentinela, sem extravasamento capsular; desde que complementado o tratamento com radioterapia total da mama e adjuvância sistêmica (GOLDHIRSCH et al, 2011; GIULIANO et al, 2016).

As cirurgias parciais (quadrantectomias) com linfadenectomia seletiva (sentinelas) serão preponderantes, embora nas situações em que o tamanho do tumor se mostrar muito elevado em relação à dimensão da mama, e nos casos de axilas maciçamente comprometidas, as mastectomias com linfadenectomia axilar completa ainda sejam necessárias (GOLDHIRSCH et al, 2011).

A radioterapia tem um papel importante no tratamento loco-regional dos TTN, e será indicada na maioria absoluta dos casos. Devido a preferência já mencionada pelas cirurgias conservadoras, que por si só obrigam à essa complementação; e pela tendência a recidivas, precoces e mais frequentes. Wahba e El-Hadaad (2015), comentam que a frequente associação do perfil triplo negativo com tumores basais, e mutações do gene BRCA1, predispõem ao encontro de tumores muito indiferenciados e com deficiência dos mecanismos de reparo do DNA, que os torna particularmente

radio-sensíveis. Como em outras situações, a radioterapia seria capaz de esterilizar os tecidos peritumorais, reduzindo a chance de recorrências.

Em cirurgias conservadoras, a radioterapia reduz o risco de recorrências em 10 anos, de 35% para 19,3%, e de morte em 15 anos, de 25,2% para 21,4%. Em pacientes axilo-negativas, comuns entre TTN, essa redução chega respectivamente à queda de 31% para 15,6%, e de 20,5% para 17,2%. Conforme o relato de Darby e colaboradores (2011), esses resultados ficam claros, em meta análise de 17 estudos randomizados, envolvendo 10801 casos de câncer de mamas.

1.8.3 - Tratamentos Sistêmicos:

Os tratamentos sistêmicos, em particular a quimioterapia, tendem a ser mais específicos para os Triplo Negativos. O desafio está na seleção das melhores drogas e associações, já que há muita heterogeneidade e, doenças com sensibilidades diversas, classificadas dentro do mesmo perfil. Barrios e cols (2011), reconhecem esses aspectos, mas não recomendam uma abordagem diferenciada para essas pacientes, no que concerne à escolha dos regimes quimioterápicos adjuvantes. São, como acima mencionado, enquadradas dentro da categoria de risco alto, e preferencialmente tratadas com esquemas baseados em antracíclicos e taxanes.

Essa associação parece ser aceita na maioria dos serviços de oncologia, e foi posteriormente complementada com drogas do grupo da cisplatina. Ampara-se em aspectos ligados aos Triplo Negativos, principalmente a natureza altamente proliferativa dos mesmos e, nos frequentes bloqueios aos reparos do DNA intranuclear. Os tumores basais, que constituem a maior fração dos TTN, exibem esses aspectos: Os “basal-like 1”, são ricos em genes do ciclo celular, e genes ligados à respostas aos danos do DNA. Os primeiros condicionam a alta celularidade e boas respostas a antimitóticos como os taxanes; enquanto as agressões aos reparos do DNA predispõem à sensibilidade a agentes platínicos. Os “basal-like 2” carregam adicionalmente, genes ligados ao EGFR, mas da mesma forma são sensíveis à cisplatina. A maior parte das linhagens celulares com mutações reconhecidas nos oncogenes BRCA 1 e BRCA 2 estão relacionadas aos subtipos basais e são semelhantes no que tange à quimio-sensibilidade (STEFANSSON et al, 2009;

LEHMANN et al, 2011; ISAKOFF et al, 2014). A proporção de Triplo Negativos que é concomitantemente basal varia segundo os autores, mas é sempre expressiva, razão pela qual essas associações terapêuticas se mostram aplicáveis à maioria dos mesmos. Há por outro lado uma menor fração (de TTN), que não se enquadra nos subtipos basais ou BRCA relacionados, o que amplia a complexidade do assunto e justifica o cuidado na seleção dos casos (BRADY-WEST e Mc GROWDER, 2011).

Wahba e cols (2015) resumem a ação dos quimioterápicos a três objetivos: combater a proliferação celular rápida, para o qual as antraciclinas bem se prestam; atingir os sistemas de DNA danificados, sensíveis aos platínicos, e tratar os tumores “P53 like”, para os quais os taxanes estariam particularmente indicados. Esses objetivos eventualmente se contrapõem, em função da heterogeneidade intra e extra tumoral, e daí a atenção à subtipagem e à associação de drogas. Exemplo: a maioria dos TTN tem mutações do gene P 53, o que condiciona respostas insatisfatórias às antraciclinas, fato que é contornado com a associação de taxanes; se as mutações são dos genes BRCA 1, há tendência à insensibilidade a esses últimos, corrigível pela associação da cisplatina. Essas e outras considerações visam prever a resposta aos agentes específicos, tanto em esquemas tradicionais de QT, quanto em combinações futuras, para tratamentos-alvo (VERMA et al, 2011; WAHBA et al, 2015).

Uma extensa meta-análise sobre a evolução das portadoras de câncer mamário tratadas com QT, e englobando cerca de 100000 mulheres, foi publicada pelo grupo EBCCTG (Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group), da Universidade de Oxford (UK), em 2011. Englobou 123 ensaios randomizados, comparando os resultados de diferentes regimes de poliquimioterapia, mas os autores não se detiveram nas classificações moleculares, embora tenham mencionado a positividade ou não dos RE, e feito muitas observações sobre a importância dos mesmos. Compararam os esquemas mais utilizados: os baseados em antraciclinas, os de associação de antraciclinas e taxanes, estes com o CMF (Ciclofosfamida, Methotrexate e Fluorouracil), e a poliquimioterapia e não quimioterapia.

As conclusões da meta-análise foram:

- Os regimes quimioterápicos 4 AC (Adriamicina/Ciclofosfamida) e CMF (Ciclofosfamida/Methotrexate/Fluorouracil) têm eficácia equivalente para o tratamento do câncer de mama. Os estudos mostram redução

das recorrências em 2 anos à metade, e em 8 anos a um terço. E de 20 a 25% na mortalidade global.

- Regimes com doses menores que as doses-padrão são menos eficazes, independente da medicação administrada.
- Regimes em que é possível a administração de doses superiores às doses-padrão de CAF (Ciclofosfamida/Doxorubicina/Fluorouracil), ou CEF (Ciclofosfamida/Epirrubicina/Fluorouracil), ou mesmo em regimes de 4 AC+ T (Taxanes: Paclitaxel ou Doxetacel), resultam em maior benefício e redução adicional de 15 a 20% na mortalidade.
- Em todas as comparações feitas em uso “versus” não uso de QT, foi constatada a vantagem da administração da mesma, com uma redução média de 20 a 30% na mortalidade, chegando a 36% para os regimes mais efetivos. A associação de AC + T se mostrou levemente superior na maioria dos estudos, ao AC isolado, ou com outros citotóxicos.
- A redução proporcional na recorrência e na mortalidade por câncer de mama nos tratamentos quimioterápicos, independe dos receptores de estrogênio, do tamanho do tumor, estado axilar, idade da paciente, grau tumoral ou uso de TMX.

O trabalho reafirma achados de outros autores, e tem grande relevância devido ao número de pacientes estudadas, e por serem estudos randomizados de diferentes centros, em regime de colaboração. A importância dos esquemas de QT utilizados é incontestável, e os resultados dos tratamentos melhoraram com os mesmos, independentemente do perfil molecular. Os TTN respondem muito bem aos tratamentos com base em antraciclinas, fato que é muito bem percebido nas neoadjuvâncias, nas quais a presença do tumor permite a observação objetiva da redução e desaparecimento do mesmo. São muitas as publicações que mostram uma resposta melhor dos Triplo Negativos a esses esquemas, que a dos tumores luminais. A resposta patológica completa (RPC) a esquemas AC foi muito mais frequente em TTN (85%) que nos luminais (47%), na experiência de Carey e colegas (2007). Apesar dessa boa resposta inicial, os TTN (e HER2) tiveram piores taxas de sobrevida livre de doença (SLD) e sobrevida global (SG), que os luminais, fato que foi chamado pela autora de “paradoxo dos Triplo Negativos” (CAREY et al 2007).

1.8.4 Neoadjuvância em Triplo Negativos:

A neoadjuvância, realizada antes do tratamento cirúrgico, tem um espaço especial dentre os recursos de tratamento dos TTN. Vários trabalhos demonstram taxas de resposta patológica completa (RPC) mais elevadas dentre Triplo Negativos, quando comparadas às dos demais subtipos tumorais, o que é por sua vez preditivo de boas evoluções a longo prazo. A neoadjuvância contorna por outro lado, as dificuldades na seleção de drogas ou esquemas adequados, uma vez que informa a sensibilidade aos mesmos, “in vivo”. O trabalho acima mencionado, de Carey et al, demonstra que as pesquisas sobre neoadjuvância em TTN se intensificaram nos últimos dez anos, e já se dispõe de dados confiáveis sobre a mesma. Em análise retrospectiva avaliando esquemas com antraciclinas e taxanes, Wang e colaboradores (2009) identificaram RPC significativamente melhores em TTN, quando comparados a NTN, 38% X 12%. Outrossim que essas respostas completas também proporcionaram sobrevidas livres de doença (SLD) mais longas, quando comparadas àquelas em que a redução dos tumores foi apenas parcial. De fato, os Triplo Negativos que respondem mal à QT primária, são considerados de muito pior prognóstico (WANG et al, 2009; WAHBA et al, 2015).

Avaliando o efeito dos taxanes na neoadjuvância, o projeto NSABP-27 comparou as respostas a curto e longo prazo dos seguintes tratamentos:

- AC por três ciclos seguido da cirurgia (784 pacientes)
- AC por quatro semanas seguido de quatro ciclos de Doxetacel, e então cirurgia (783 pacientes)
- Quatro ciclos de AC; cirurgia, e quatro ciclos de Doxetacel após a operação (777 pacientes).

A adição do Doxetacel praticamente dobrou a RPC nos dois braços em que foi utilizado, de 12,9% e 14,4%, para 26%. Entretanto não houve ganho a longo prazo, já que as sobrevidas livres de doença e global não experimentaram aumentos significativos (RASTOGI et al, 2008).

Quanto aos platínicos, a princípio não utilizados rotineiramente no tratamento do câncer de mama, adquiriram importância à medida que se conheceu melhor a

biologia dos tumores hereditários, com mutação do gene de suscetibilidade BRCA1. Esse gene propicia os mecanismos de reparo e a recombinação dos filamentos homólogos de DNA, mantendo a normalidade das transcrições. A mutação e a instabilidade do mesmo propiciam a perpetuação das atipias nucleares e a evolução da doença. O bloqueio dessa via patogênica se faz melhor com agentes que neutralizem esse DNA defeituoso, interrompendo o processo, como é o caso da cisplatina e da carboplatina. Devido à semelhança histológica dos TTN esporádicos às linhagens celulares com mutações do BRCA1, essas drogas passaram a ser utilizadas tanto em quimioterapias secundárias, quanto em primárias. Garber e colaboradores utilizaram essa droga isoladamente no pré-operatório de mulheres com Triplo Negativos estádios II e III, e atingiram 22% de RPC, taxa considerada boa para uma única medicação. Associando-se outros agentes como a epirrubina e o paclitaxel a resposta clínica chegou a 65% (GARBER et al, 2006). Em 2010 Silver e colaboradores publicaram os resultados de 28 pacientes portadoras de TTN basais, classificados por grupamento hierárquico, e submetidas à neoadjuvância com cisplatina, e completando os tratamentos com cirurgia, radioterapia e adjuvância tradicionais. Obtiveram também 22% de RPC, e 64% de respostas clínicas completas ou parciais, considerando no total, 50% de boas respostas pelo “score” de Miller-Payne (“scores 3,4 e 5: respostas completas e quase completas). Concluíram que uma parte considerável dos TTN responde à cisplatina, e que essa resposta será inversamente proporcional à expressão do gene BRCA 1. Os autores chamaram a atenção para a importância de outros biomarcadores na predição dos resultados. Em sua experiência, mutações e inativações do P53, e a expressão de genes específicos como o E2F3, bem como a menor idade das pacientes, otimizaram a ação da cisplatina (SILVER et al, 2010).

Percebe-se uma progressiva aceitação da cisplatina tanto na neoadjuvância quanto para adjuvância nos casos considerados mais agressivos. E nas doenças avançadas. Tomaz Byrski, Rebecca Dent e outros, publicaram em 2012 um estudo fase 2, sobre o uso da cisplatina em câncer de mama metastático BRCA 1 positivo. Relataram 45% de respostas patológicas completas e 35% de respostas parciais, e respectivamente, 80%, 60% e 25% de sobrevida global em um, dois e três anos. Comentaram a boa tolerância aos tratamentos (BYRSKI et al, 2012). Em 2014 Petrelli

et al publicaram um revisão sistemática e meta-análise sobre o valor dos agentes platínicos na neoadjuvância para TTN. Incluíram 28 estudos, dos quais seis eram ensaios randomizados controlados, e 22 prospectivos ou retrospectivos. Concluíram que comparados aos regimes tradicionais, os esquemas contendo cisplatina ou carboplatina apresentaram índices de RPC três vezes superiores àqueles (RR 3.32, 95% CI 2,39-4,61; $p < 0,001$) (PETRELLI et al, 2014). Ainda assim persistem dúvidas quanto à incorporação definitiva desses agentes, porque não se dispõe ainda de dados de longo prazo sobre a evolução das mulheres tratadas (AGRAWAL e MAYER, 2014).

Ainda com relação à neoadjuvância, o mesmo grupo de “trialists” acima referido, do EBCTCG de Oxford, publicou em 2018 um estudo sobre dez “trials” randomizados, englobando 4756 pacientes. Compararam resultados de longo prazo da neoadjuvância “versus” QT adjuvante, num “follow-up” médio de 9 anos. Como no trabalho anterior, não houve um relato específico para cada perfil molecular. Relataram que a neoadjuvância esteve relacionada a uma taxa superior de recorrências locais a longo prazo: 21,4% x 15,9% em 15 anos, sem diferenças significativas para recorrências a distância (38,2% x 38,0%), ou mortalidade específica: 34,4% x 33,7%. Observaram que a redução dos volumes tumorais pela neoadjuvância, e o uso alargado das cirurgias conservadoras propiciado por essa redução, talvez explique a maior frequência de recorrências locais nessas pacientes. A conclusão foi que a neoadjuvância de fato propicia cirurgias menores, e provê informações valiosas na seleção de drogas, mas que não parece propiciar ganhos em termos de mortalidade pelo câncer de mama, bem como aumenta o risco da recorrência local, num período de pelo menos 10 anos (EBCTCG 2018)

1.8.5 - Ensaios com Tratamentos-Alvo:

Apesar de boas respostas às quimioterapias primária e secundária, persistem tendências à recorrências e metástases precoces, sobretudo pulmonares e cerebrais. A quimiossensibilidade frequentemente se mostra como recurso de curta duração, o que motiva a busca de componentes moleculares que permitam tratamentos-alvo,

modificando a história natural dos TTN, e os prognósticos de médio e longo prazos. (BRADY-WEST e Mc GROWDER, 2011).

- Anti angiogênicos:

Drogas anti angiogênicas foram testadas, e o Bevacizumab, associado à quimioterapia, mostrou bons resultados iniciais em tumores metastáticos, com aumento do tempo livre de doença. Entretanto nos ensaios de fase III esses resultados não se confirmaram. Cameron e colaboradores relataram em 2013, os dados de um estudo randomizado fase III, no qual 2600 pacientes Triplo Negativas foram alocadas a partir de 360 sites, em 17 países. E foram seguidas após tratamentos com quimioterapia isolada (n= 1290), ou QT + Bevacizumab (n= 1301). Numa primeira análise realizada após três anos, a SLD foi de 82,7% no grupo de QT isolada, contra 83,7% no grupo de QT + Bevacizumab. Posteriormente, quando se atingiram 200 mortes, foi feita a avaliação da sobrevida global, que não detectou diferença entre os grupos, mas efeitos colaterais maiores, no segundo. Concluíram que o Bevacizumab não pode ser recomendado em pacientes não selecionadas, e que “follow ups” mais amplos são necessários para embasar sua indicação (CAMERON et al, 2013). Outros inibidores do VEGF (“Vascular Endothelial Growth Factor) foram tentados. O Sorafenib e o Sutinib, que são em adição, inibidores do sistema tirosina-kinase, não demonstraram vantagens em estudos fase III (SLEDGE & WINNER, 2016).

- Inibidores do Sistema Enzimático PARP:

Outro grupo de drogas sugerido para terapias-alvo, têm sido o dos inibidores do sistema PARP (Poli Adp Ribose Polimerase). Este é um amplo grupo de enzimas, do qual se destaca a PARP 1, envolvidas no reparo da dupla hélice do DNA. É sabido que durante o ciclo celular os filamentos dos ácidos nucleicos sofrem várias rupturas e agressões, promovendo alterações que, se persistirem, geram proteínas anômalas que podem induzir à malignidade. Nas células sadias, componentes proteicos e enzimáticos do sistema PARP, identificam e programam os reparos, restaurando a

conformação da molécula do DNA. Ou desativam o sistema, e provocam a morte da célula se necessário; evitando que um mecanismo protetor, seja transformado em promotor (letalidade sintética).

Há alguns ensaios em curso. Tutt e colaboradores (2010), publicaram estudo fase II sobre o Olaparib, em doenças avançadas de pacientes com mutações dos genes BRCA 1 e 2. Obtiveram 41% de resposta global com a dose máxima da medicação, e 22% com dose reduzida. 27 mulheres participaram de cada um dos braços dessa pesquisa. O Olaparib foi aprovado pela FDA (Food and Drug Administration) nos Estados Unidos, e no Brasil pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), para tumores de ovário e mamas. Estudos fase III foram anunciados para 2017, mas a sua indicação nos carcinomas de mama carece de maiores informações.

O' Shaughnessy e colaboradores (2014), testaram o Iniparib em pacientes TTN estágio IV, e ou recidivas. Um total de 519 pacientes foi dividido em dois grupos, sendo que 261 mulheres receberam Iniparib associado à Gencitabina + Carboplatina e, 258 as duas drogas, sem o Iniparib. O estudo foi randomizado e ao final de 18 meses, não foi identificada diferença significativa em termos de progressão da doença ou sobrevida total. Os autores sugerem um benefício limitado para pacientes em segunda e terceira linha de tratamentos, mas ressaltam que outros estudos seriam necessários para confirmação (O' SHAUGHNESSY et al, 2014).

- Drogas anti EGFR:

O grupo de drogas anti EGFR tem sido avaliado com a mesma finalidade de terapias-alvo. Este fator de crescimento epidérmico, também denominado HER 1, faz parte da família Erb B; um grupo de proteínas com ações na membrana celular e na membrana nuclear, na qual se incorpora ao sistema tirosina-kinase. Internalizado, ativa vias específicas de proliferação, mobilidade e imortalidade de células, e essas ações se realizam por sua vez, à custa de mecanismos de transcrição do RNA e, replicação e reparo do DNA. O gene do EGFR é frequentemente mutante, e superexpresso em tumores de pulmão, colon, cabeça e pescoço, cérebro, pâncreas e mamas, nos quais promove a progressão tumoral e resistência à drogas. É mais

frequente em TTN que em outros subtipos tumorais; e é reconhecido como fator de mau prognóstico (NAKAI et al, 2016).

Há dois grupos de inibidores EGFR: Os que agem sobre as tirosina-kinases e os anticorpos monoclonais. Vários trabalhos avaliam os efeitos dessas substâncias, e os inibidores da tirosina-kinase têm sido inconvincentes tanto em uso isolado quanto associados à QT. Em “trials” fase II, o Gefitinib e Erlotnib demonstraram respostas entre 0 e 3% em tumores metastáticos ou recorrentes. A associação do Erlotinib à quimioterapia em estádios III e IV também teve efeitos praticamente nulos. Resultados igualmente ruins ocorreram com o Alfatiniib (NAKAI et al, 2016).

Os anticorpos monoclonais foram objeto de estudo de Carey et al (2012), que compararam o uso do Cetuximab isolado, com a associação Cetuximab+Carboplatina, e detectaram taxas de resposta de respectivamente 6% e 16%, em doença recorrente e metastática. Os autores sugeriram a busca de outros recursos (CAREY et al, 2012).

Outras linhas de pesquisa buscam alvos e terapias de fato eficazes e aplicáveis aos tumores Triplo Negativo. São muitos os genes (e suas vias enzimáticas e proteicas), cujas ações influenciam o surgimento e evolução dessa ampla gama de tumores. O PTEN (“Phosphatase and Tensin homolog”) é um oncogene cuja função é produzir proteínas que eliminem células em proliferação desordenada e excessiva. O silenciamento do mesmo, frequente nos TTN, predispõe por sua vez à ativação da via fosfatidil – inositol 3 kinase (“phosphatidilinositol 3-kinase”) ou PI3-k, que sinaliza, à semelhança das tirosina-kinases, para o crescimento e multiplicação celular. Há drogas para o bloqueio dessa via, mas como em outros estudos, os dados não são conclusivos.

1.8.6 - Letalidade sintética e interação de drogas:

Células e clones celulares com genomas instáveis, alterados no sentido da multiplicação desordenada, devem ser inativados para que a doença não progrida. O melhor exemplo dessa inativação é a provocada sobre os tumores BRCA 1 com mecanismos de reparo da dupla hélice do DNA, por derivados platínicos, radioterapia ou outros. A letalidade sintética ou programada é bem conhecida, e evoluiu para um sistema terapêutico mais abrangente chamado de “propostas de alvos redundantes”,

que sugere que vias de efeitos semelhantes ou complementares, sejam tratadas simultaneamente. Ou seja: se um determinado gene é inativado terapeuticamente, a sua via patogênica é rapidamente substituída por outra, de gene “análogo”. E a evolução da doença ou a resistência às drogas, prosperam. Se ambos os genes forem bloqueados simultaneamente, a ação patogênica de um ou ambos vai estar impedida, e o efeito benéfico será atingido. Os inibidores do EGFR são considerados capazes de sensibilizar TTN aos inibidores do PARP, e bloquear a resistência tumoral aos mesmos. Nowsheen e cols (2012), relataram a capacidade do Lapatinib, de provocar uma deficiência transitória no citado reparo do DNA em células de TTN, aumentando a citotoxicidade do inibidor de PARP ABT-888 (Veliparib). O mecanismo dessa sensibilidade aumentada, segundo os autores, derivou do bloqueio intranuclear dos genes EGFR e BRCA 1, com o comprometimento dos reparos dos ácidos nucleicos das células tumorais, fazendo-as susceptíveis ao composto ABT-888. O experimento foi realizado em camundongos e em cultura de células humanas, e se baseou na capacidade do Lapatinib de bloquear a recombinação de homólogos nas células malignas, lesando de forma definitiva o maquinário de replicação das mesmas, e precipitando a apoptose. Concluíram declarando que a descoberta da interação EGFR / BRCA 1, poderá facilitar o tratamento-alvo de Triplo Negativos altamente agressivos (NOWSHEEN et al, 2012).

Em outro ensaio DU et al (2016), promoveram o bloqueio da via patogênica do gene c – Met, o qual é muito frequente em TTN, permitindo da mesma forma, a ação dos inibidores do PARP. Embora como foi dito, esse grupo de drogas tenha ação sobre os TTN, principalmente BRCA associados, é fato também que, isolados foram pouco eficientes. Uma das razões para os efeitos insatisfatórios dessas drogas, é a rápida adaptação tumoral e formação de resistência, mediante vias do gene c-met. A associação de bloqueadores desse gene, Crisotinib ou Foretinib, potencializa a ação dos inibidores PARP. Foram testados o Olaparib (AZD2281), o Veliparib (ABT-888) e Rucaparib (AGO14699), e o princípio do experimento foi o mesmo: inibir o reparo das células malignas inviabilizando-as; e provocando apoptose (DU et al, 2016).

As letalidades sintética e interativa representam mais um dentre os inúmeros esforços para se obterem tratamentos-alvo eficazes em Triplo Negativos. Não há consenso sobre o esquema ou droga adequada para tal. O que não impede que

aqueles sejam utilizados mediante criteriosa seleção de casos, em serviços especializados. Com controle igualmente cuidadoso das respostas e evolução das pacientes.

1.8.7 - Imunoterapias em TTN:

Os inúmeros antígenos tumorais, provocam igual número de respostas orgânicas da hospedeira, a maioria das quais visando o bloqueio do processo mórbido. A eclosão do tumor já evidencia o desequilíbrio; a ser controlado mediante o tratamento. Este pode visar diretamente as células malignas ou, indiretamente, reforçar e reativar o sistema imune contido no estroma tecidual, e mesmo no tumoral.

Há duas vias principais de imunoterapias em desenvolvimento para o câncer: de mama:

- Bloqueio de imuno-receptores: que são moduladores, ou eventuais inibidores naturais das células “T” citotóxicas. São os denominados “Immune checkpoint blockade”.
- Infusão de receptores de antígenos naturais ou quiméricos: CAR (chimeric antigen receptors”); vacinas contra o câncer.

No primeiro grupo de tratamentos, intenta-se o bloqueio de antígenos específicos de superfície celular, denominados “immune checkpoints receptors” (ICR). Esses receptores têm a função de modular a resposta imunológica em tecidos saudáveis, evitando agressões autoimunes. No tecido tumoral privilegiam o desenvolvimento da neoplasia, porque inibem a ação tumoricida dos linfócitos citotóxicos. A neutralização dos “checkpoints” libera essas células supressoras, para que retornem à sua função normal, restaurando a imunidade do tecido. Um exemplo muito conhecido dessa terapia é o bloqueio dos moduladores (“checkpoints”) CTL 4, um grupo de antígenos que inibem a ação dos linfócitos “T” em melanomas. Um anticorpo monoclonal anti-Ctl 4, o ipilimumabe, foi utilizado já em estudos fase III, em melanomas metastáticos, proporcionando aumento de sobrevida (HODI et al, 2010).

A infiltração linfocitária em cânceres de mama, prevalente em TTN, costuma ser interpretada como sinal de prognóstico favorável, e facilitar tanto a ação de

quimioterápicos quanto de inibidores dos “immune checkpoints”. Níveis elevados de infiltração linfocítica, hoje mensuráveis, são indicadores de tumores receptíveis a essa imunomodulação. Stanton, Adams e Disis, publicaram em 2016, revisão sistemática englobando trabalhos sobre infiltrados de células CD8+ e FOXP3, demonstrando que, os Triplo Negativos exibem índices mais elevados de infiltração linfocítica: 20% em média (4 - 37%) comparados a 6% dos tumores RH+ (3 - 12%). Interpretaram os achados como indicadores de boas respostas às imunoterapias nesse perfil tumoral (STANTON, ADAMS e DISIS, 2016). Há ponderações de outros autores quanto à principal composição desses infiltrados, que poderiam significar uma resposta imune não tão eficaz, se o acúmulo de células representar mais linfócitos “T” reguladores, que privilegiam o crescimento dos tumores, que dos “T” citotóxicos, eficazes no combate aos mesmos. No câncer, a fixação de antígenos tumorais aos corpúsculos imunomoduladores (ICR) dos linfócitos T (“natural killers”) bloqueia implacavelmente a ação dos mesmos, permitindo aos tumores escapar da vigilância imunológica e eliminação. A grande produção local de citocinas provocada pelo surgimento da neoplasia, induz ao surgimento do PD 1 (“Programmed Cell Death nº 1”), que se fixa à célula supressora bloqueando sua ação. A inativação das vias patogênicas proporcionadas pelos ligantes PD-1 e PD-L1, através de anticorpos monoclonais, tem mostrado efeitos modestos, mas promissores tanto em uso isolado quanto associados à QT. Além disso esses dois ligantes são mais prevalentes em TTN, o que desperta esperanças de mais uma via de tratamentos-alvo para os mesmos (WILLIAMS et al, 2018). Nanda e colaboradores (2016), descreveram o uso do inibidor PD-1 pendrolizumabe, em 111 pacientes com tumores Triplo Negativos avançados, e já submetidos a outros tratamentos. Destas, 58,6% eram PD-1 positivas e 33 foram selecionadas para receber o anticorpo monoclonal citado. A taxa de resposta e o bloqueio da atividade tumoral chegou a 18,5%, e o tempo médio de resposta chegou a 17,9 semanas, o que levou os autores a concluir, que o recurso é promissor para TTN avançados. Relataram novos ensaios, com doses mais altas, já em fase II (NANDA et al, 2016).

As vacinas se baseiam na exposição provocada a antígenos específicos, provocando o seu reconhecimento e a memória imunológica aos mesmos. O que capacita aos organismos a futura identificação e a eliminação desse elemento

antigênico, quando do contato ou a eventual invasão. As vacinações, usadas já rotineiramente na prevenção de doenças infecciosas, se estenderam ao câncer, a princípio visando elementos virais a ele relacionados, como o papiloma-vírus humano produtor do câncer de colo uterino. Antígenos precocemente produzidos nos mecanismos de tumorigênese, também podem servir de alvos na prevenção e tratamento de outros tumores.

Os linfócitos T auxiliares, ao detectarem a presença de células malignas no organismo, frequentemente as fagocitam e identificam fragmentos peptídicos com os quais formam os complexos de histocompatibilidade 1 e 2 (MHC 1 e 2: “Major histocompatibility complex 1 and 2”). As células dendríticas também identificam os antígenos tumorais formando os mesmos complexos, os quais por sua vez (principalmente os MHC 1) acionam os linfócitos T citotóxicos para a eliminação dos clones celulares anormais. Injeções intramusculares desses fragmentos proteicos têm sido tentadas para a inativação do HER2 e MUC1 (mucina 1). Entretanto há frequentemente a rápida degradação dessas proteínas, o que limita o alcance das vacinas, que funcionam em um número pequeno de pacientes. Há tentativas de injeções de células do próprio tumor, que carreariam um espectro muito mais amplo de antígenos, mas uma vez fagocitadas as células tumorais, não se consegue mais individualizar tais substâncias antigênicas, e em modelos animais, têm sido percebidas inativações das mesmas nas cascatas de reações tumorigênicas.

Tem-se tentado outrossim a inserção de plasmídeos em bactérias ou vírus modificados, que carreariam fragmentos de DNA para o interior das células tumorais, visando a modificação do genoma das mesmas, e a apoptose, mas a eficácia desses métodos ainda está em estudo. Moléculas sintéticas denominadas de antígenos quiméricos (CAR: chimeric antigens receptors), mostraram-se capazes de redirecionar as células T para os seus efeitos antitumorais. A administração desses antígenos em tumores sólidos ainda não propiciou bons resultados, embora tenha sido altamente eficaz em neoplasias sanguíneas (WILLIAMS et al, 2018).

Portanto, como exposto nos tópicos acima, há uma miríade de aspectos envolvidos na terapêutica do câncer de mama. Alguns constituem recursos de maior relevância, já aceitos e aplicáveis a quase todos os casos, outros mais específicos,

que poderão ser de grande valor para determinadas pacientes. Mostrou-se particularmente importante, o momento de se iniciar o tratamento, ou em corolário, a demora em iniciá-lo; a despeito do tipo de conduta indicada. Bleicher e colaboradores (2016), utilizando duas amplas bases de dados americanas, a “Surveillance, Epidemiology and End Results, SEER”, e a “National Cancer Database, NCBDB”, analisaram a influência da intervenção cirúrgica em 30, 31-60, 61-90, 91-120 e 120-180 dias após o diagnóstico, e concluíram que o adiamento da cirurgia representou um aumento de mortalidade de aproximadamente 11% para pacientes no estadio 1, e 10% para o estadio 2, após ajustes para aspectos demográficos, tumorais e terapêuticos. Estudos análogos avaliando o tempo de início da quimioterapia adjuvante, também evidenciaram prejuízos nos adiamentos. Gagliato e colegas estudaram em 6827 pacientes com câncer de mama, as diferenças na evolução de longo prazo nas QT iniciadas em até 30, 31 a 60, e mais de 60 dias após a cirurgia. Concluíram que o risco relativo de recidivas a distância em 5 anos, aumentou em 20% para pacientes do estágio II; e o de morte, em 76% para pacientes do estágio III. E que os TTN cujos tratamentos se iniciaram com mais de 60 dias, apresentaram piores sobrevidas, quando comparados àqueles assistidos em até 30 dias após a operação (respectivamente: RR 3,09; 1,49-6,39 IC 95% e RR 1,54; 1,09-2,18, IC 95%) (GAGLIATO et al, 2014). Achados semelhantes foram descritos por Zhan e cols, que em revisão sistemática e meta-análise de 15 estudos independentes, concluíram que o retardo em mais de 4 semanas no início de QT adjuvante já significaria um aumento no risco de recidivas de 14%, e de morte em 13%. Da mesma forma sublinharam que essa piora nos resultados, é mais facilmente perceptível em tumores Triplo Negativos (ZHAN et al, 2017).

2 – JUSTIFICATIVA

Devido à heterogeneidade dos carcinomas mamários, há necessidade de individualização dos casos para a eleição da melhor conduta. Nesse trabalho buscou-se separar as pacientes portadoras de Tumores Triplo Negativos das demais, utilizando-se os meios disponíveis de classificação dos tumores, e observando-se até que ponto essas ferramentas taxonômicas nos auxiliam no dia-a-dia, e agregam melhoras ao diagnóstico e orientação terapêutica.

Nossa formação como cirurgião de mamas e ginecológico, e o contato diuturno com o problema, motivaram a realização desta pesquisa. Utilizamos informações de uma coorte de mulheres portadoras de câncer de mama tratadas e acompanhadas em nosso município, tanto no sistema público de saúde como na medicina complementar e privada

A análise da sobrevida global e livre de doença em cinco anos, e dos fatores associados, na comparação de pacientes com câncer de mama Triplo Negativo (TTN) e Não Triplo Negativo (NTN), poderão fornecer informações importantes para o fito do estudo. Modelos de regressão foram utilizados com o propósito de responder se, a identificação desse perfil é fator isolado de prognóstico e predição terapêutica; e se a evolução e a resposta aos tratamentos nessa coorte, seguem os padrões descritos alhures.

Limitamos a análise aos cinco primeiros anos de acompanhamento, porque nos interessa conhecer em particular a evolução das pacientes nesse período; que é sabidamente o mais importante e peculiar, no que tange aos TTN. As recorrências nesse grupo tumoral tendem a se mostrar mais precoces, ocorrendo sobretudo nos três anos subsequentes ao diagnóstico e tratamento (DENT et al, 2007; BLOWS et al, 2010; van ROOZENDAAL et al, 2016). Além disso, pelo fato de o controle de cinco anos ser tradicional e institucionalizado, as informações concernentes à SLD nessa fase, se tornam mais acessíveis e confiáveis

3 – OBJETIVOS

Geral:

Comparar os aspectos clínico-epidemiológicos dos Tumores Triplo Negativos em relação aos Não Triplo Negativos em coorte de mulheres com câncer de mama assistidas em centros oncológicos de referência de Juiz de Fora, Minas Gerais.

Específicos:

- A) Descrever as características sociodemográficas, tumorais e evolutivas na população de estudo.
- B) Analisar a sobrevida livre de doença em cinco anos e fatores associados.
- C) Analisar a sobrevida global em cinco anos e fatores associados.

4 – METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo

Estudo de coorte não concorrente de base hospitalar, composta por 447 mulheres portadoras de câncer invasivo de mama não metastático, diagnosticadas entre 2003 e 2005, tratadas e acompanhadas no Instituto Oncológico e Hospital 9 de Julho. São centros de alta complexidade em oncologia de Juiz de Fora, que atendem respectivamente a pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS) e da medicina privada e convênios. O município é polo de oito microrregiões de saúde, as quais englobam 94 cidades da região sudeste do estado de Minas Gerais.

. As pacientes foram divididas em dois grupos conforme o subtipo tumoral: Tumores Triplo Negativos (TTN) com 87 casos, e Não Triplo Negativos (NTN) com 360 casos.

4.2 Obtenção dos dados

A identificação dos casos baseou-se no registro de câncer de base hospitalar das duas instituições. A coleta dos dados foi realizada nos prontuários das pacientes, por especialistas em oncologia e mastologia, em fichas padronizadas; e as

informações foram complementadas sempre que necessário, mediante o registro hospitalar de câncer, por contato telefônico com as pacientes ou familiares residentes no mesmo domicílio. Reavaliação de prontuários e contato com os médicos assistentes também foram efetivadas.

Foram feitas consultas ao Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM) do estado de Minas Gerais ou ao CPF (Cadastro de Pessoas Físicas) para atualização do “status” vital nos casos em que esse dado não constasse no prontuário e nem nas fichas de seguimento das mulheres selecionadas.

4.3 - Seleção das pacientes

No período compreendido entre janeiro de 2003 e dezembro de 2005 foram atendidas nesses hospitais 601 mulheres portadoras de câncer de mama. Trinta e oito delas foram cadastradas apenas para condutas parciais, como cirurgia ou radioterapia, e não realizaram o tratamento completo nas instituições acima. Foram excluídas da pesquisa.

1ª) etapa: estudo e seleção dos perfis desconhecidos

As 563 pacientes incluídas na coorte, foram divididas conforme a classificação imunoistoquímica, em Triplo Negativas ou Não Triplo Negativas. As primeiras, não expressavam receptores de estrogênio (RE), nem de Progesterona (RP), nem o antígeno Her2. Todas as demais situações constituíram o grupo de Não triplo Negativas.

Houve necessidade de estudo caso-a caso porque 86 mulheres foram a princípio classificadas como perfis desconhecidos ou parciais. Tratavam-se na maioria, de análises incompletas ou dúbias dos marcadores do antígeno Her 2. Como nos interessava apenas separar as Triplo negativas de todas as demais, reavaliamos os 86 “perfis desconhecidos”, e encontramos:

- 48 tumores duplo positivos (RE+ / RP+)	}	56 NTN (incluídos)
- 6 tumores mono- positivos (RE+ / RP-)		
- 2 tumores progesterono- positivos (RE- / RP+)		
- 17 tumores duplo negativos (RE- / RP-)	}	32 (exclusão)
- 13 tumores que em que não foi realizado estudo istoquímico		
- 2 pacientes com prontuários incompletos		

Os tumores duplo-positivos, mono-positivos e progesterono-positivos (56 no total), obviamente não poderiam ser classificados de nenhuma forma como Triplo Negativos, e foram aproveitados no estudo; incluídos no grupo NTN. Os 17 casos duplo-negativos poderiam ou não ser TTN. Como não dispomos de informações que permitam essa separação, foram excluídos. Da mesma forma foram excluídos 13 outros casos em que não foi realizado o estudo istoquímico. Na maioria eram pacientes que chegaram aos hospitais com tumores muito avançados, ou estado geral comprometido, necessitando de intervenções imediatas, que não permitiam sequer a espera pela melhor caracterização do subtipo tumoral. Duas outras pacientes foram excluídas nessa fase, devido a prontuários incompletos e informações insuficientes. Portanto, das 86 pacientes a princípio descritas como “perfil desconhecido”, que representavam 15,3% das 563 recrutadas, foi possível aproveitar 56, reduzindo de 86 para 32, os casos a serem excluídos; 5,7% do total.

2ª) Etapa: Estudo e exclusão dos carcinomas “in situ”:

A classificação molecular dos cânceres de mama é recomendada para os tumores infiltrantes, pela “American Cancer Society on Clinican Oncology” e pelo “College of American Pathologists” (ANDERSON et al, 2014). Os carcinomas “in situ” da mama constituem um capítulo especial dentro da mastologia e recebem interpretação e tratamentos diversos dos invasivos. A maioria dos trabalhos sobre perfil imunoistoquímico os exclui, e optamos por seguir essa orientação (HUDIS et al, 2007; PICCART-GEBHART, 2015). Foram excluídos 45 casos de carcinomas “in situ”.

3ª) Etapa: Estudo e exclusão da doença metastática (estádios IV):

Na maioria das pesquisas, o câncer de mama metastático, que compromete órgãos a distância, é estudado em separado dos demais. As pacientes com metástases têm mecanismos de progressão diversos, determinados por outras condições que não somente o perfil molecular do tumor inicial, embora a positividade dos receptores hormonais ainda possa guardar alguma importância prognóstica (DHODAPKAR et al, 1996; RODRIGUES et al, 2010). São casos de alto risco com indicação precípua de QT, nos quais a presença dos marcadores (HER 2, RE, RP), apenas orientam a associação de recursos específicos à mesma (BARRIOS, BUZAID, ROCHA CRUZ & MAYER, 2012). Outros determinantes como os sítios de metástases, o tempo livre de doença e a carga tumoral, bem como tratamentos prévios e “performance status” são mais importantes para prognóstico e resgate terapêutico (MAUTONI et al 2005; KAO et al, 2015).

A preponderância do tratamento quimioterápico a despeito de subclassificações tumorais, e a relevância das demais avaliações citadas, explica a razão de, em algumas mulheres dessa coorte, sequer ter sido realizada a caracterização do fenótipo. A própria urgência em se iniciar tais tratamentos, também foi causa de não classificações.

Por essas razões, foram excluídas 39 pacientes com doença metastática.

4ª) Etapa: Constituição final dos grupos a serem estudados:

Após as inclusões e exclusões referidas, restaram 447 pacientes que constituíram nossa população de estudo. Com base na classificação imunoistoquímica, essas pacientes foram divididas em dois grupos: TTN quando, conforme já dito, os receptores para estrogênio e progesterona, bem como do CERb B2 (HER 2) estavam negativos, e NTN em quaisquer outras situações (portanto aqui englobando os Luminais A e B e os HER 2 superexpresso). Foram identificadas 87 mulheres na primeira situação (Triplo Negativas), e 360 na condição de Não Triplo Negativas (NTN).

4.4 - Análises de Imunoistoquímica

A análise imunoistoquímica foi realizada em laboratório credenciado pelos hospitais, nos blocos de parafina e lâminas que continham os tumores previamente utilizados na histopatologia. Seguiu a sequência de: desparafinização do tecido, recuperação de antígenos pelo uso de calor úmido e tampões; bloqueio da peroxidase endógena e, colocação dos anticorpos específicos: SP1 e SP2 para estrogênio e progesterona; e SP3 ou 4B5 para HER2 (diluição: 1 / 250). Leitura pelo sistema streptavidina-biotina, considerando-se como positivos para estrogênio e progesterona, os tumores com mais de 10% dos núcleos fortemente corados. Para o HER 2 considerou-se como positiva a coloração da membrana celular de 3+ (score 0 a 3+), considerando-se como negativo o "0", e enviando-se os casos + / ++ para o teste de hibridização "in situ" (FISH "fluorescence in situ hybridization"). Casos em que esses testes não foram esclarecedores (positivo / negativo), foram excluídos do estudo.



Figura 6 - Seleção de Pacientes

4.5 - Variáveis analisadas

Foram avaliadas variáveis sociodemográficas, características do tumor e aspectos dos tratamentos, comparando-se os dois grupos de estudo: TTN e NTN.

Sociodemográficas:

- Idade média em anos, ao momento do diagnóstico
- Cor da pele: branca e não branca. Foi considerada a princípio a anotação que constava no prontuário, e se ausente, a auto referência mediante o contato com a paciente ou familiar residente no mesmo domicílio.
- Escolaridade: - alta: curso secundário completo ou superior
- média: curso primário completo
- baixa: curso primário incompleto ou analfabetas
- História familiar de câncer de mama: - mãe e ou irmãs com câncer de mamas
- Serviço de saúde: - público - Sistema Único de Saúde (SUS)
- privado - Sistema Complementar e privado

Variáveis ligadas ao tumor:

- Tamanho: estratificado em igual ou menor que 2cm, e maior que 2cm conforme descrição do exame anatomopatológico, em que se leva em consideração o componente invasivo da neoplasia. Na falta desse detalhamento, o tamanho especificado em exames de imagem, de preferência ecográfico; e se necessário a complementação ou a descrição clínica constante no prontuário.
- Linfonodos comprometidos: positivo ou negativo para acometimento linfonodal
- Estadiamento clínico- patológico I, II, III segundo a UICC (Gradishar et al: NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, 2016)
- Tipo histológico: ductal infiltrante, lobular infiltrante ou outros

- Grau tumoral: I, II, III, conforme a classificação de Scarf, Bloom e Richardson, modificada por Elston e Ellis (Elston & Ellis, 1991)
- Infiltrado Linfocitário: presente ou ausente conforme descrição no exame anatomopatológico da peça operatória.
- Ki 67: estratificado em: igual ou menor que 25% e, igual ou maior que 26%.

Utilizamos esses pontos de corte porque, embora disponhamos da mensuração do marcador em 82% das pacientes, a titulação original foi estipulada em: negativa (poucos casos, 2,1% para NTN e 1,3% em TTN). A seguir: até 25%; 26 a 50%; 51 a 75 e, maior que 75%. Embora o ponto de corte ideal seja para a maioria dos autores em torno de 14/15%, não há uma definição. E as informações trazidas por outras titulações são consideradas um robusto parâmetro prognóstico para o câncer mamário (GOLDHIRSCH et al, 2011; INWALD et al, 2013)

- P53: estratificado em: igual ou menor que 25% e, igual ou maior que 26%. Rakha e cols (2006) deram um valor prognóstico restrito às titulações do P53 quando comparadas aos demais parâmetros do NPI: tamanho, grau tumoral e axilas; Kim e seu grupo (2015) consideraram o marcador como importante fator preditivo de RPC em neoadjuvâncias. Utilizaram o ponto de corte de $\geq 25\%$, ou $> 25\%$ (RAKHA et al, 2006; KIM et al, 2015).
- Multifocalidade: presente ou ausente conforme descrição no exame anatomopatológico da peça operatória.
- Multicentricidade: também presente ou ausente, conforme acima.

Variáveis ligadas aos tratamentos e evolução das pacientes:

- Cirurgias: radicais: mastectomias totais, com estudo de axilas.
Conservadoras: quadrantectomias, setorectomias ou tumorectomias, acompanhadas de estudo axilar.
- Quimioterapias: realizadas ou não
- Recorrências: presentes ou ausentes, em até cinco anos de seguimento

- Tempos de recorrência: até 24 meses (precoces); 25 a 36 meses (intermediárias) 37 a 60 meses (tardias).
- Sobrevida global em 5 anos: óbitos e não óbitos.

4.6 - Seguimento das pacientes

O seguimento dos casos foi de no máximo 60 meses para cada paciente; realizado por meio de consulta aos prontuários, e complementado na medida do necessário, por buscas no Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM), no Cadastro de Pessoas Físicas (CPF) e por contato telefônico.

Foram censuradas as pacientes que permaneceram vivas até 31/12/2010, data final do seguimento. Para aquelas com perda de acompanhamento, foi considerada a última informação disponível.

Na análise da sobrevida global considerou-se como início, a data do diagnóstico (laudo histopatológico) e como desfecho, o óbito por qualquer causa. Para análise da sobrevida livre de doença, início na data do primeiro tratamento e, como desfecho, a recorrência, definida como a recidiva loco-regional, metástases ou óbito por qualquer causa (HUDIS et al, 2012, QIU et al, 2016).

4.7 - Análise estatística

Foi realizada análise descritiva dos dados, com média e desvio-padrão para as variáveis quantitativas e porcentagens para as qualitativas. As diferenças na distribuição das características entre os grupos TTN e NTN, foram avaliadas por testes “t” independente para as variáveis quantitativas e, teste Qui-Quadrado, para as qualitativas. As funções de sobrevida foram calculadas pelo Método Kaplan-Meier, e o teste de Log-Rank foi utilizado para comparar as curvas de sobrevida. Os fatores prognósticos de sobrevida global e sobrevida livre de doença foram analisados pelo Modelo dos Riscos Proporcionais de Cox, sendo calculados os “hazard-ratios” (HR) com os respectivos intervalos de confiança de 95% (IC 95%). As variáveis que apresentaram valores de $p < 0,25$ no modelo de Cox univariado foram incluídas no modelo multivariado. O pressuposto de proporcionalidade dos riscos foi validado pela

análise dos resíduos de Schoenfeld. Para as variáveis com dados ausentes (grau tumoral, Ki 67 e P53), foi feito estudo comparativo, considerando como dependentes, o perfil tumoral, recorrências, metástases e óbitos. Não foram detectadas diferenças significativas entre os grupos (com dados faltantes x demais pacientes), confirmando o caráter aleatório das perdas, e permitindo a inclusão das variáveis citadas na pesquisa. Todos os cálculos foram feitos no IBM SPSS Statistics 21 (IBM Corp., Armonk, NY), sendo adotado nível de significância de 5%.

O estudo foi autorizado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora (Nº 151.219 de 22/11/2012)

5 – RESULTADOS

5.1 Aspectos demográficos e clínico patológicos

Das 447 pacientes, 87 eram Triplo Negativas: 19,5% do total. A idade média ao diagnóstico foi de 57,7 (\pm 13,7) anos, e pouco diferiu entre os dois grupos.

Foram detectadas diferenças significativas em aspectos étnicos e sociais, como cor da pele e escolaridade; com maior proporção de não brancas dentre as TTN (32,1%), quando comparadas às NTN (16,3%). Na escolaridade, mulheres com baixa e média instrução se acumularam dentre as Triplo Negativas, somando (baixa e média) 72,2% X 55,7% nas NTN. O uso do serviço público de saúde (SUS) foi mais frequente dentre as Triplo Negativas, mas o dado não alcançou significância estatística.

Foi observado maior percentual de tumores maiores que 2cm ao diagnóstico, no grupo TTN: 67,4% (X 56,5%; $p=0,07$) e de estadiamento III (38,4% X 27,5%; $p=0,09$). E diferenças significativas no grau tumoral, com 35,8% de TTN exibindo o grau III, contra 16,3% dos NTN ($p < 0,001$). O infiltrado linfocitário se mostrou mais presente dentre os Triplo Negativos (55,7% X 40,8%; $p=0,02$) assim como a multifocalidade ($p=0,04$). Bem como índices elevados de P53 ($p=0,04$) e Ki67 ($p=0,09$).

5.2 - Tratamento e evolução

Os TTN exibiram percentuais significativamente maiores de cirurgias radicais e uso de quimioterapia. 61,6% dos mesmos foram tratados mediante mastectomias radicais, o que ocorreu em 46,1% dos Não Triplo Negativos ($p=0,01$). A quimioterapia foi realizada em 83,9% dos TTN, contra 65,3% dos NTN ($p=0,001$).

Em relação aos desfechos, 102 pacientes morreram (22,3% do total), durante o período de seguimento, até 31 de dezembro de 2010; sendo 33 TTN e 69 NTN, que representaram respectivamente 37,9% e 19,2% de cada grupo ($p<0,001$). Foram detectadas 126 recorrências (28,5%), e as Triplo Negativas apresentaram maior frequência das mesmas: 42,5% contra 24,7% ($p<0,001$), além de recorrências precoces proporcionalmente mais comuns. Em até 24 meses de seguimento, ocorreram 67,5% das recorrências de Triplo Negativas, contra 40,4% das demais; no outro extremo, de recorrências tardias (37 a 60 meses), locaram-se 33% das Não Triplo Negativas, e apenas 6% das TTN ($p=0,02$; tabela 1).

5.3 - Fatores Prognósticos

A análise univariada de fatores prognósticos (Teste de Cox) demonstrou que no grupo TTN o risco de recorrências foi 2,23 vezes maior (HR 2,23: 1,52–3,28; IC 95%) e o risco de óbitos 2,97 vezes superior (HR 2,97:1,96–4,50; IC95%), em relação ao grupo NTN.

Os fatores prognósticos associados com a sobrevida livre de doença (Tabela 2) e sobrevida global (Tabela 3) foram diferentes dependendo do subtipo de tumor. No grupo NTN, o risco de recorrências aumenta nas pacientes com menos de 40 anos, não brancas, com menor escolaridade, tumor >2cm, grau tumoral e estadiamento III, que fizeram quimioterapia, com presença de linfonodos comprometidos e P53 e KI67 elevados. No grupo TTN, apenas presença de linfonodos comprometidos e o estadiamento, mostraram-se associados às recorrências (Tabela 2).

Em relação à sobrevida global, no grupo NTN, o risco de óbito aumenta nas pacientes não brancas, com menor escolaridade, oriundas de serviço público de saúde, tumor >2cm, grau tumoral e estadiamento III, presença de linfonodos

comprometidos, metástases e KI67 elevado. Já, no grupo TTN, o risco foi maior nos pacientes com linfonodos comprometidos, com estadiamento III, e que tiveram metástases (Tabela 3).

Pelo método de Kaplan-Meier, a probabilidade estimada de sobrevida global acumulada em 5 anos foi de 77%; e a de sobrevida livre de doença foi de 72% para a população total. A probabilidade de sobrevida global em cinco anos do grupo NTN, foi de 81%, superior aos 62% dos TTN. A probabilidade estimada de sobrevida livre de doença em 5 anos foi de 75% para o grupo NTN e de 57% para o TTN. (log-rank: $p < 0,001$).

Na tabela 4 estão apresentados os resultados do modelo multivariado. No grupo NTN, o risco de recorrências (SLD) foi maior para pacientes de escolaridade baixa ou média e ou linfonodos comprometidos. No grupo TTN, a multicentricidade foi o único fator prognóstico significativo para a SLD. O risco de óbitos, no grupo NTN foi maior em pacientes de pele não branca, com estadiamentos II e III. No grupo TTN, os fatores prognósticos de sobrevida global (SG), foram o comprometimento dos linfonodos axilares e a multicentricidade.

Tabela 1 - Distribuição das variáveis segundo o subgrupo tumoral
(Juiz de Fora - MG, 2003 - 2005)

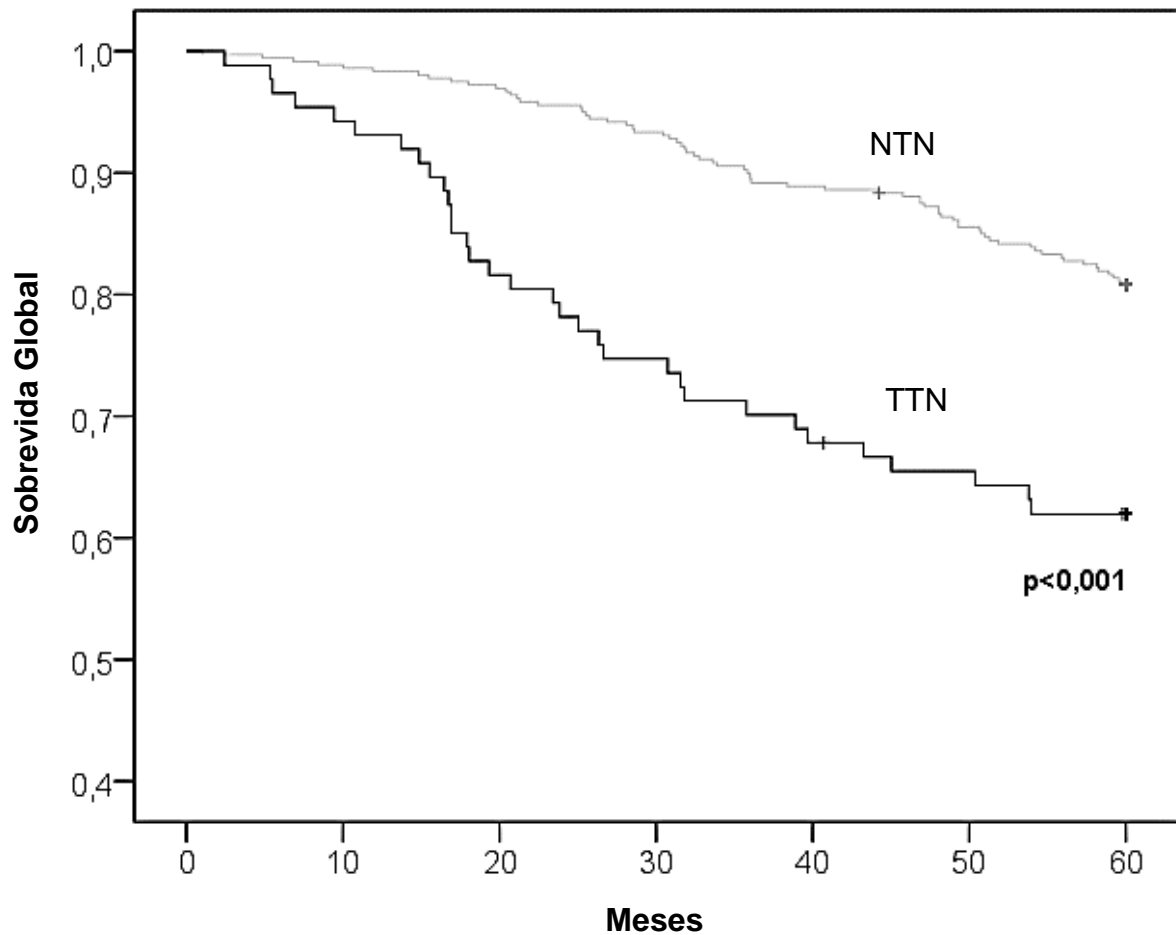
VARIÁVEIS	TOTALIS	SUBTIPO TUMORAL		P-VALOR
		TTN	NTN	
		n %	n %	
Numero de pacientes	447	87 (19,5)	360 (80,5)	
Idade ao diagnóstico (média + dp)	447	57 (± 13)	58 (± 14)	0,49
Cor da pele	422			0,001
Branca	340	57 (67,9)	283 (83,7)	
Não Branca	82	27 (32,1)	55 (16,3)	
Escolaridade	404			0,007
Alta	166	22 (27,8)	144 (44,3)	
Média	68	21 (26,6)	47 (14,5)	
Baixa	170	36 (45,6)	134 (41,2)	
História familiar de câncer	416			0,3
Presente	120	19 (24,1)	101 (30)	
Ausente	296	60 (75,9)	236 (70)	
Serviço de Saúde	447			0,14
Público	220	49 (56,3)	171 (47,5)	
Privado	227	38 (43,7)	189 (52,5)	
Tamanho do tumor	438			0,06
> 2cm	257	58 (67,4)	199 (56,5)	
≤ 2cm	181	28 (32,6)	153 (43,5)	
Linfonodos comprometidos	437			0,64
Positivo	198	40 (47,6)	158 (44,8)	
Negativo	239	44 (52,4)	195 (55,2)	
Estadiamento	446			0,09
Estadio I	124	18 (20,9)	106 (29,4)	
Estadio II	190	35 (40,7)	155 (43,1)	
Estadio III	132	33 (38,4)	99 (27,5)	
Tipo Histológico	446			0,21
Ductal infiltrante	352	73 (83,9)	279 (77,7)	
Lobular infiltrante	56	6 (6,9)	50 (13,9)	
Outros	38	8 (9,2)	30 (8,4)	
Grau tumoral	337			< 0,001
Grau I	111	10 (14,9)	101 (37,4)	
Grau II	158	33 (49,3)	125 (46,3)	
Grau III	68	24 (35,8)	44 (16,3)	
Infiltrado linfocitário	427			0,02
Presente	186	44 (55,7)	142 (40,8)	
Ausente	241	35 (44,3)	206 (59,2)	

Tabela 1 - Distribuição das variáveis segundo o subgrupo tumoral
(Juiz de Fora - MG, 2003 - 2005)

VARIÁVEIS	TOTAIS	SUBTIPO TUMORAL		P-VALOR
		TTN	NTN	
		n %	n %	
Ki 67	349			0,09
<= 25%	94	15 (19,5)	79 (29)	
>= 26%	255	62 (80,5)	193 (71)	
P 53	336			0,04
<= 25%	230	37 (57,8)	193 (71)	
>= 26%	106	27 (42,2)	79 (29)	
Multifocalidade	423			0,04
Presente	35	11 (14,1)	24 (7)	
Ausente	388	67 (85,9)	321 (93)	
Multicentricidade	422			0,25
Presente	21	6 (7,7)	15 (4,4)	
Ausente	401	72 (92,3)	329 (95,6)	
Cirurgias	442			0,01
Radicais	217	53 (61,6)	164 (46,1)	
Conservadoras	225	33 (38,4)	192 (53,9)	
Quimioterapia	447			0,001
Sim	308	73 (83,9)	235 (65,3)	
Não	139	14 (16,1)	125 (34,7)	
Recorrência	447			0,001
Presente	126	37 (42,5)	89 (24,7)	
Ausente	321	50 (57,5)	271 (75,3)	
Tempos de recorrência	126			0,02
Até 24 meses	61	25 (67,5)	36 (40,4)	
25 a 36 meses	26	6 (16,2)	20 (22,5)	
37 a 60 meses	39	6 (16,2)	33 (37,1)	
Sobrevida global em 5 anos	447			< 0,001
Óbitos (em até 5 anos)	102	33 (37,9)	69 (19,2)	
Não óbitos (em até 5 anos)	345	54 (62,1)	291 (80,8)	

* Totais variam em função dos dados faltantes

SOBREVIDA GLOBAL - KAPLAN-MEIER



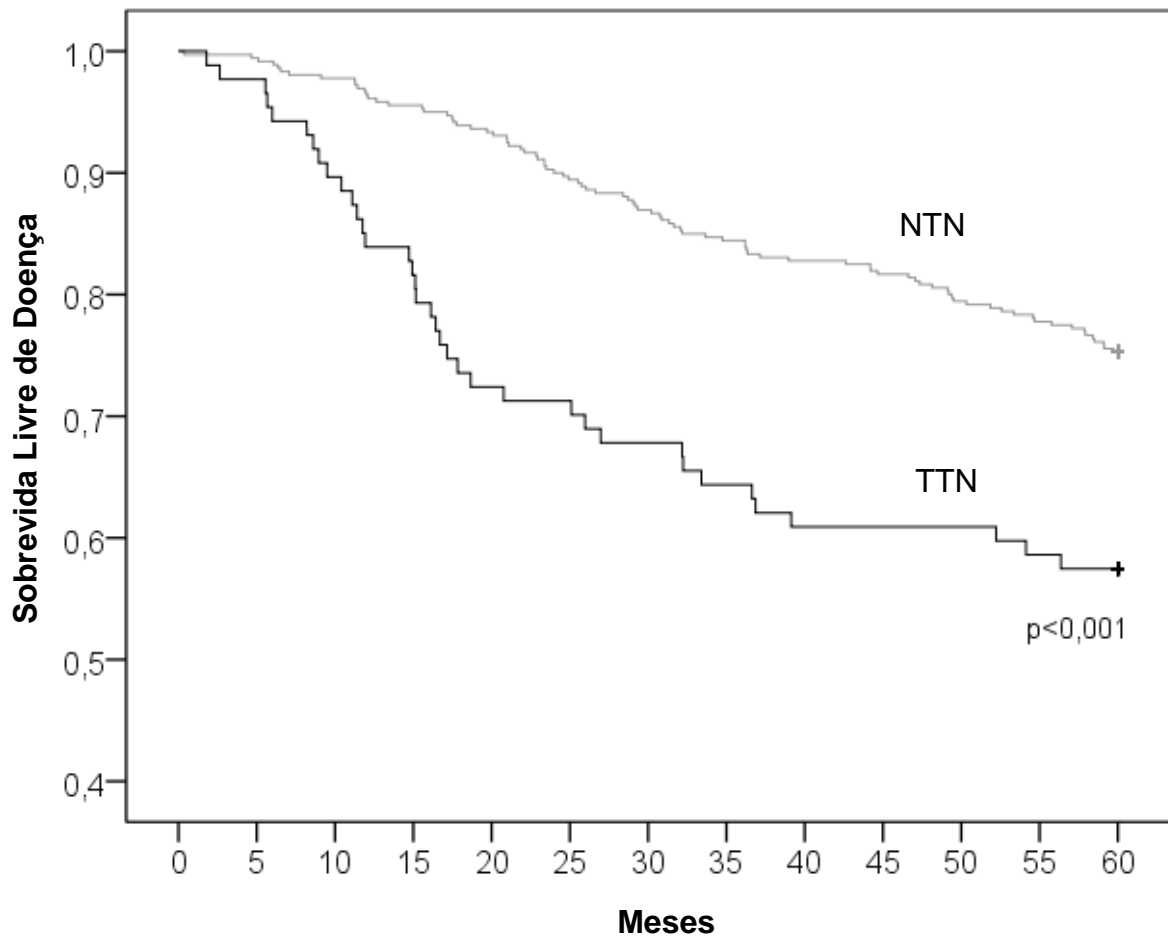
Dados Comparativos

	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	18,773	1	,000

Test of equality of survival distributions for the different levels of p_TTN.

Figura 7: Sobrevida global em pacientes Triplo Negativas (TTN) e pacientes Não Triplo negativas (NTN). Pacientes TTN apresentam pior sobrevida global do que as NTN, pelo teste log-rank. (Juiz de Fora - MG, 2003 - 2005)

SOBREVIDA LIVRE DE DOENÇA - KAPLAN MEIER



Dados Comparativos

	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	15,445	1	,000

Test of equality of survival distributions for the different levels of p_TTN.

Figura 8: Sobrevida livre de doença em pacientes com câncer de mama Triplo negativos (TTN) e Não Triplo negativos (NTN). Pacientes TTN apresentam pior sobrevida livre de doença do que as NTN, pelo teste log-rank. (Juiz de Fora - MG, 2003 - 2005)

RECORRÊNCIAS

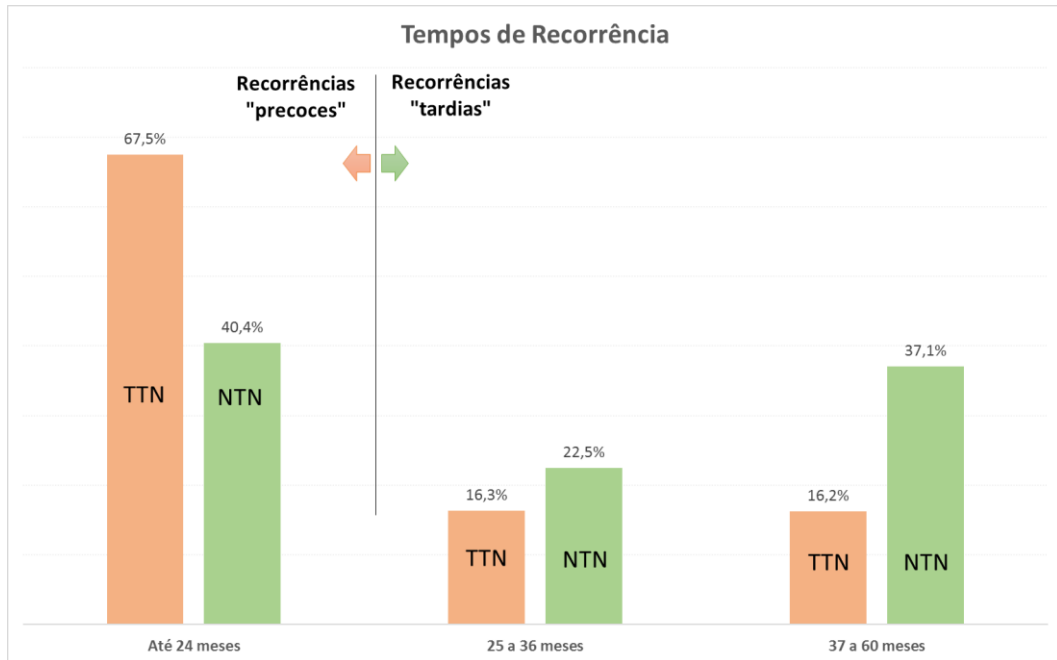


Figura 9: Gráfico comparativo dos padrões de recorrências entre Triplo e Não Triplo Negativos

SOBREVIDA GLOBAL

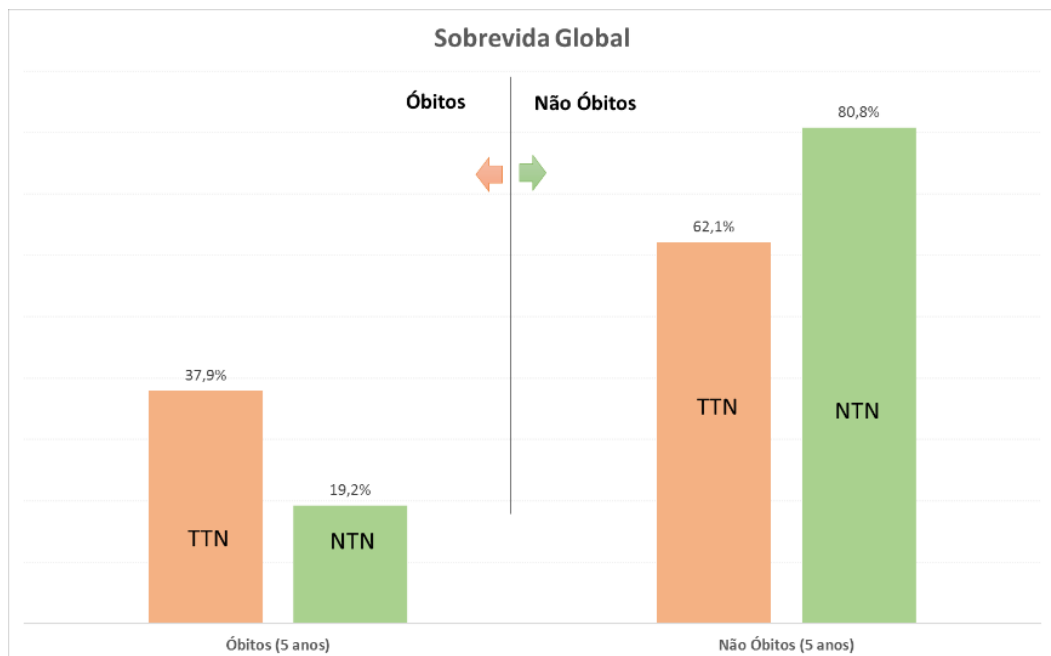


Figura 10: Gráfico comparativo das sobrevidas globais de Triplo e Não Triplo Negativos

Tabela 2- Modelo univariado dos Riscos Proporcionais de Cox e intervalo de confiança de 95% para o **tempo de sobrevida livre de doença** em cinco anos, de 447 mulheres com diagnóstico câncer de mama. (Juiz de Fora - MG, 2003 - 2005)

Característica	NTN		p	TTN		p
	HR	IC95%		HR	IC95%	
Idade (<40a vs. ≥40a)	1,91	1,10 – 3,34	0,02	1,15	0,28 – 4,77	0,85
Cor da pele (Não brancas vs. brancas)	1,91	1,16 – 3,16	0,01	1,47	0,76 – 2,88	0,26
Escolaridade (Baixa-Média vs. Alta)	1,92	1,19 – 3,10	0,01	1,55	0,67 – 3,58	0,30
Serviço de Saúde (Público vs. Privado)	1,40	0,92 – 2,12	0,12	1,16	0,60 – 2,24	0,66
Quimioterapia (Sim vs. Não)	1,74	1,08 – 2,82	0,02	0,90	0,38 – 2,17	0,82
Tamanho do Tumor (>2cm vs. ≤2cm)	2,58	1,59 – 4,19	<0,001	1,40	0,67 – 2,90	0,37
Linfonodos comprometidos (Positivo vs. Negativo)	2,28	1,47 – 3,53	<0,001	2,15	1,07 – 4,31	0,03
Grau tumoral (III vs. I – II)	2,23	1,28 – 3,89	0,005	0,88	0,42 – 1,82	0,73
Estadiamento (III vs. I – II)	3,89	2,56 – 5,90	<0,001	1,89	0,98 – 3,64	0,05
P53 (Médio-Alto vs. Baixo)	1,88	1,16 – 3,05	0,01	1,07	0,53 – 2,16	0,86
KI67 (Médio-Alto vs. Baixo)	2,06	1,08 – 3,94	0,03	0,91	0,39 – 2,11	0,83
Multifocalidade (Sim vs. Não)	1,62	0,81 – 3,22	0,17	1,53	0,63 – 3,68	0,34
Multicentricidade (Sim vs. Não)	1,70	0,74 – 3,90	0,21	2,46	0,87 – 7,01	0,09
Infiltrado Linfocitário (Presente vs. Ausente)	1,00	0,65 – 1,54	0,99	1,47	0,74 – 2,92	0,27

(HR: Risco Proporcional).

Tabela 3- Modelo univariado dos Riscos Proporcionais de Cox e intervalo de confiança de 95% para o **tempo de sobrevivida global** em cinco anos, de 447 mulheres com diagnóstico câncer de mama. (Juiz de Fora - MG, 2003 - 2005)

Característica	NTN		p	TTN		p
	HR	IC 95%		HR	IC 95%	
Idade <40anos vs. ≥40anos	1,65	0,87 – 3,15	0,13	1,06	0,25 – 4,43	0,94
Cor da pele Não brancas vs. brancas	2,41	1,41 – 4,12	0,001	1,51	0,75 – 3,04	0,25
Escolaridade Baixa-Média vs. Alta	2,05	1,17 – 3,61	0,01	1,66	0,68 – 4,08	0,27
Serviço de Saúde Público vs. Privado	1,82	1,13 – 2,46	0,01	1,42	0,70 – 2,89	0,33
Quimioterapia Sim vs. Não	1,34	0,79 – 2,25	0,27	0,75	0,31 – 1,81	0,52
Tamanho do Tumor >2cm vs. <2cm	3,29	1,82 – 5,94	<0,001	1,37	0,63 – 2,95	0,43
Linfonodos. Compr. Positivo vs. Negativo	2,25	1,36 – 3,73	0,002	2,72	1,27 – 5,82	0,01
Metástase Presente vs. Ausente	14,75	8,42 – 25,83	<0,001	13,5	5,36–34,03	<0,001
Grau tumoral III vs. I – II	2,87	1,55– 5,29	0,001	1,01	0,47 – 2,19	0,98
Estadiamento III vs. I – II	3,93	2,44 – 6,32	<0,001	2,18	1,09 – 4,37	0,03
P53 Médio-Alto vs. Baixo	1,51	0,86 – 2,63	0,15	1,06	0,50 – 2,23	0,88
KI67 Médio-Alto vs. Baixo	2,12	1,00 – 4,50	0,05	0,98	0,40 – 2,40	0,97
Multifocalidade Sim vs. Não	0,81	0,29 – 2,22	0,68	1,51	0,62 – 3,68	0,37
Multicentricidade Sim vs. Não	1,79	0,72 – 4,45	0,21	2,67	0,93 – 7,65	0,07
Infiltrado Linfocitário Presente vs. Ausente	1,01	0,50 – 1,35	0,82	1,57	0,75 – 3,28	0,23

(HR: Risco Proporcional).

Tabela 4 - Modelos multivariados dos Riscos Proporcionais de Cox para **sobrevida livre de doença** e **sobrevida global** em cinco anos, segundo grupos tumorais (NTN e TTN), de 447 mulheres com diagnóstico câncer de mama. Juiz de Fora - MG, Brasil, 2003 - 2005

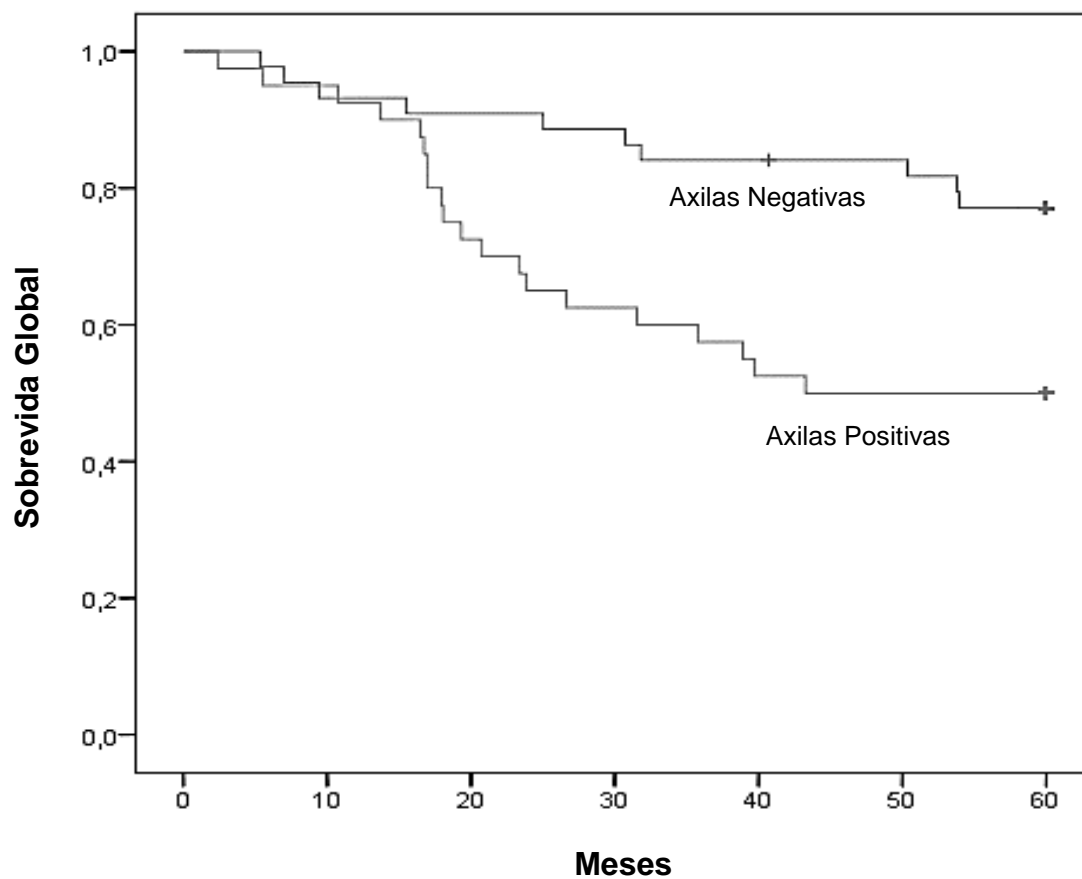
Variáveis	Sobrevida Livre de Doença		p	Sobrevida Global		p
	HR	IC 95%		HR	IC 95%	
NTN						
Cor da Pele						
Não Branca vs. Branca	-	-	-	2,01	1,17 - 3,45	0,01
Escolaridade						
Baixa - média vs. Alta	1,91	1,14 - 3,22	0,01	-	-	-
Linfonodos Compr.						
Sim vs. Não	1,81	1,14 - 2,90	0,01	-	-	-
Estadiamento II						
Estadio II vs. I	-	-	-	3,06	1,16 - 8,05	0,02
Estadiamento III						
Estadio III vs. Estadio I	-	-	-	8,36	3,27- 21,36	< 0,001
TTN						
Linfonodos Compr.						
(Sim vs. Não)	2,28	1,12 - 4,57	0,02	2,80	1,26 - 6,25	0,012
Multicentricidade						
(Sim vs. Não)	-	-	-	4,11	1,17 -14,36	0,027

(NTN: tumores não triplo-negativos; TTN: tumores triplo-negativos)

(HR: hazard ratio; IC 95%: Intervalo de confiança de 95%).

Todos os modelos foram ajustados para idade ao diagnóstico, no formato contínuo

SOBREVIDA GLOBAL: PACIENTES TTN (Em relação às axilas)



Dados Comparativos

KAPLAN- MEIER	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	17,565	1	,000

Figura 11: Sobrevida Global de pacientes Triplo Negativas com e sem comprometimento axilar

6 - DISCUSSÃO

6.1 - As pacientes e seus tumores

. A prevalência de 19,5% de Tumores Triplo Negativos parece condizente com a constituição de nossa população, sabidamente miscigenada e com forte participação de afrodescendentes. No limite dos 12 a 20% calculados para as várias populações mundiais, mas distante dos 26 a 39% relatados dentre AA residentes nos estados de Atlanta e da Califórnia (EUA), incluídas no “Carolina Breast Cancer Study”. A idade média das portadoras de TTN foi de 57 anos, não se verificando aqui a precocidade, nem as diferenças nas faixas etárias de Triplo e Não Triplo Negativos mencionadas em muitas publicações. Foulkes et al (2010), relataram idades médias inferiores a 50 anos nos tumores basais, e Bauer e colaboradores (2007), encontraram idades médias de 54 anos para TTN, e 60 para os demais. É possível que a idade reflita certo grau de atraso em nossos diagnósticos, o que é coerente com a baixa proporção de estadios I em ambos grupos de estudo. Não foram detectadas diferenças significativas quanto à paridade, amamentação, estado reprodutivo e história familiar.

O acúmulo de mulheres não brancas, com baixa escolaridade e mais dependentes dos serviços públicos de saúde dentre as TTN, coincide com o maior encontro desse subtipo específico em populações socialmente desfavorecidas. Vários autores relataram maior frequência de perfis tumorais mais agressivos, como os Triplo Negativos basais, em negras e latinas, e com piores evoluções; apesar da menor incidência da doença como um todo, nesses grupos (CAREY et al 2006; PATEL et al, 2010). Em nosso trabalho a etnia também se mostrou relacionada à maior frequência do perfil Triplo Negativo em não brancas, o que coincidiu com evoluções ruins. O aspecto se manteve presente nos modelos de regressão para análise de riscos (em SLD e em SG para TTN), refletindo a importância dessa característica, tanto na incidência dos tumores quanto na evolução das pacientes.

Esse achado é merecedor de reflexões, num país continental como o Brasil, em que persistem claras disparidades socioeconômicas dentre grupos étnicos, e mesmo dentre as diferentes regiões geográficas. Os dados do CBCS demonstraram a importância dos aspectos biológicos no determinismo de piores evoluções, os quais

se somam às implicações de ordem social. Cabe aqui arguir dois aspectos propostos para o combate de câncer no Brasil: a busca de informações de natureza epidemiológica visando delimitar as populações de risco e, o planejamento das ATS, visando a detecção precoce. Se em 20% das mulheres brasileiras portadoras de câncer de mama, o perfil é sabidamente mais agressivo, regionalizado, e sem tratamento específico, há que se incrementar o rastreamento dessa população e conscientizá-la dos maiores riscos. Na Inglaterra foi proposta uma reorganização dos registros de câncer a partir de 2012, visando exatamente um maior aproveitamento dos dados epidemiológicos no controle da doença. Foram priorizados os aspectos clínicos e de prognóstico, dentre os quais os RH e subtipos moleculares do câncer mamário. Os TTN, que representaram um risco de morte ajustado de 2,00 (1,84-2,17; IC 95%) entre as mulheres inglesas, mereceram especial atenção, sendo mais rastreados e encontrados nas negras (Moller et al, 2016). No boletim “Cancer Statistics Registrations, England: 2012”, no sub-ítem “Use and users of Cancer statistics” é literalmente grafado:

“The Department of Health uses cancer statistics to brief parliamentary ministers, and as part of the evidence base to inform cancer policy and programmes, for example in drives to improve survival rates”. (Office for National Statistics, UK: 2012).

Foi percebida a maior gravidade dos casos de TTN, já ao diagnóstico. Quase 65% foram identificados com mais de 2cm, e no estadiamento, 38,4% dos mesmos eram estadio III. Comparados aos NTN, 72,5% destes se encontravam em estadios I e II; contra menos de 62% de TTN. O acometimento axilar foi elevado, mas semelhante nos dois grupos, e se manteve significativo nas análises de risco para a SLD e SG, tanto em TTN quanto em NTN

Em ambos os grupos predominou o tipo histológico ductal infiltrante não especial (84% e 78%). Criscitiello e colaboradores (2012), sugeriram que a parcela não constituída por ductais infiltrantes, (16% dos TTN), seria a dos subtipos mais raros, como tumores metaplásicos, medulares, adenoides císticos e apócrinos. Quase sempre Triplo Negativos. Os metaplásicos (mesenquimais) têm evoluções reconhecidamente piores, e os demais, evolução variável, tendendo a comportamentos menos agressivos. Esses autores citam a subdivisão dos TTN,

proposta por Lehmann e colaboradores (2011), já mencionada nesta pesquisa, e sugerem esforços para a separação das pacientes em pelo menos dois grupos, que grosseiramente identificam como “aquelas que serão curadas pela conduta loco-regional”, e as que “dependerão da terapia adjuvante”. E sugerem aspectos a serem considerados na seleção de tratamentos.

A reduzida parcela de lobulares infiltrantes encontrada neste trabalho, foi composta principalmente por NTN, como era de se esperar. Raramente carcinomas lobulares exibem o perfil Triplo Negativo (WEIGELT et al, 2010).

A multifocalidade e a multicentricidade foram elementos de diferenciação entre Triplo e Não Triplo Negativos, tendo sido detectadas respectivamente em 14,1% X 7% e, 7,7% X 4,4%. Embora os percentuais pareçam reduzidos, são aspectos importantes de histologia e morfologia, e se mantiveram significativos tanto no teste de riscos proporcionais de Cox, quanto na análise multivariada. A multifocalidade não é achado comum nos TTN. A maioria dos mesmos tende a ser unifocal, com área central circular de células atípicas, onde focos de necrose são frequentes. E com bordas menos densas, que não infiltram, e em geral empurram os tecidos circunjacentes. Ishitha e colaboradores (2016), relataram o encontro de bordas não infiltrantes (“pushing borders”) em 37.8% dos TTN; e ainda, taxas iguais de 31,1% para bordas infiltrantes ou mistas (ISHITHA et al, 2016).

A morfologia tem sido revalorizada, e utilizada nas muitas tentativas de se separar os TTN de pior prognóstico, em geral ligados aos subtipos mesenquimais, daqueles que responderão melhor aos tratamentos, com possível resposta patológica completa à QT. As bordas lisas, digitiformes, e principalmente a área central de necrose, chamada de CAZ (“Central Acellular Zone”), são relacionadas aos subtipos mesenquimais.

Ishikawa e colaboradores (2011), também propuseram uma subdivisão, separando os carcinomas Triplo Negativos ductais convencionais, de outros subtipos especiais, de pior prognóstico, classificados como A, B, C, e D. Os subtipos A e B foram denominados de carcinomas medulares atípicos, sendo que o “B” se caracterizaria por ampla CAZ, e evolução claramente desfavorável. Os dois subtipos (A e B) teriam apenas um pequeno componente ductal, e a zona central acelular seria resultante de um amplo infarto das células tumorais, tanto ductais quanto estromais,

causado pela isquemia resultante do crescimento muito rápido do tumor. A esse rápido crescimento, se adiciona a metaplasia das células epiteliais (ductais), em mioepiteliais, formando “ninhos” e clones celulares, muito propensos à metastatização por via hematogênica (ISHIKAWA et al, 2010).

A multicentricidade, em nossa população de estudo se destacou. Mostrou significância na análise de riscos para os TTN, na SLD e na SG, e manteve-se com significância estatística no modelo multivariado para a sobrevida global. A relevância desse aspecto como fator prognóstico é reconhecida há tempos, e foi melhor descrita em 1984, por McDivitt, que ressaltou a sua importância, estimando a ocorrência em mais de 25% dos cânceres de mama (McDIVITT,1984). Publicações mais recentes ressaltam a multicentricidade como fator prognóstico especificamente em Tumores Triplo Negativos, coincidente com alta atividade proliferativa e tendência ao precoce comprometimento axilar (MOON et al, 2013; NERI et al, 2018). Em meta-análise publicada em 2014, Vera-Badillo e cols, reviram 67.557 casos de carcinomas mamários e identificaram multifocalidade ou multicentricidade em 9,5% dos mesmos. Na análise multivariada realizada por esses autores, que incluiu os fatores prognóstico clássicos, a multicentricidade mostrou taxas significativamente piores de sobrevida global (HR: 1,65; $p=0,02$). Kanumuri e cols encontraram a multifocalidade em 6,4% dos tumores e, em análise multivariada esta característica se manteve como preditora independente da positividade linfonodal. Consideraram os tumores multicêntricos, mais que os multifocais, doenças biologicamente distintas e mais agressivas (VERA-BADILLO et al, 2014; KANUMURI et al, 2015). Reiterando o que citamos acima, foi detectada multicentricidade respectivamente em 7,7% e 4,4% de TTN e NTN em nosso estudo.

Ainda com relação à morfologia, o aspecto mais expressivo da análise descritiva dos dois grupos, foi o grau tumoral, já que 35,8% dos Triplo Negativos exibiram grau III, contra 16,3% dos demais. Essa é uma das características histológicas mais importantes dos Triplo Negativos, mencionada em quase todas as publicações. E de importância capital, porque é orientadora do tratamento. Já em 2002, Amat, Penault-Llorca e outros, relataram os resultados de trabalho prospectivo com 431 pacientes, realizado em Clermont-Ferrand, França, em que o grau tumoral foi identificado mediante biópsia de agulha, antes da QT e depois do tratamento

completo, nos espécimes cirúrgicos. Comprovaram uma resposta melhor à neoadjuvância dos tumores grau III, quando comparados aos de grau I (AMAT et al, 2002). O grau tumoral talvez venha a ser um dos mais importantes critérios na indicação de neoadjuvâncias, cuja aplicação, como já foi demonstrado, aumenta a SLD, mas com efeitos ainda discutíveis a longo prazo, para a sobrevida global (WANG et al, 2009; EBCTCG, 2018).

Associando-se ao expressivo encontro de graus tumorais elevados, esteve o Ki 67, cuja titulação superior aos 26% ocorreu em quase 81% dos TTN. No consenso de St Gallen, 2011, foi proposta a titulação sistemática do mesmo em todos os casos; como marcador de proliferação epitelial e provável boa resposta à QT. E um ponto de corte de 11%. Inwald e outros (2013), deram o mesmo valor ao Ki 67, sugeriram o “cut off” de 14%, e comentaram que não há ainda valor universalmente aceito para o mesmo (INWALD et al, 2013).

A titulação do P53, que da mesma forma é interpretado como fator de proliferação, foi coerentemente bem mais significativa dentre os TTN. Dookeran e colegas valorizaram esse achado como um preditor independente de sobrevida, principalmente em afrodescendentes. Estudaram 331 afro-americanas de baixo “status” socioeconômico, tratadas e acompanhadas durante em média 41 meses; e demonstraram na análise multivariada, que o P53 se manteve como fator prognóstico para evoluções desfavoráveis (HR: 1,63; 1,01-2,59, IC 95%), mesmo após ajustes para idades, estadios, graus e subtipos tumorais (DOOKERAN et al, 2010).

6.2 - Resposta aos tratamentos, evolução e fatores prognósticos

Conforme exposto em “resultados”, as pacientes TTN foram submetidas em maiores proporções a cirurgias radicais e quimioterapias. Mesmo assim a sobrevida global e livre de doença em cinco anos, foram menores. Trinta e oito por cento dos casos de TTN morreram durante os cinco anos de seguimento, o que representou quase o dobro do observados entre os casos de NTN. As recorrências foram igualmente mais frequentes nos TTN, chegando a quase 43%; em comparação a menos de 25% nos NTN. O perfil Triplo Negativo implicou em um risco de recorrências em cinco anos, 2,23 vezes maior; e o risco de óbitos, foi três vezes superior. A

precocidade das recorrências dentre os TTN chamou a atenção, sendo que 67,5% das mesmas se deu nos primeiros dois anos após o diagnóstico, e 83,7% em três anos; contra respectivamente 40% e 63% dentre os NTN.

Qiu e colaboradores comparando mulheres chinesas com câncer de mama Triplo e Não Triplo negativas, observaram recidivas ou metástases em cinco anos, em 27,5% das TTN e, 13,4% das NTN. Comparamos a população estudada por esses autores com a nossa, na busca de explicação para a discrepância nos índices de recorrência. As diferenças parecem se dever ao fato que, em nossa amostragem, 38,4% das pacientes foram já diagnosticadas no estadio III, enquanto na população estudada por Qiu e seu grupo, apenas 27,5% estivessem nesse estadio. Com relação à sobrevida global em cinco anos, os achados de Qiu foram mais próximos dos nossos: 72% para TTN e 86,6% para NTN (neste trabalho: respectivamente, 62,1% e 80,8%).

Lin e colegas encontraram igualmente sobrevida global maior em mulheres taiwanesas com tumores Não Triplo Negativos, quando comparados à Triplo Negativos, sobretudo com linfonodos acometidos. Analisando mulheres americanas portadoras de TTN, Hernandez-Aya et al, relataram 80% de sobrevida global em cinco anos, em pacientes com axilas livres, caindo a 65% nos casos com comprometimento de até três linfonodos axilares. Quando comparamos a sobrevida global em cinco anos de nossas pacientes Triplo Negativas com axilas livres e acometidas, essa queda foi ainda mais significativa, caindo de 77,3% para 50% ($p=0,004$; figura11)

Outras casuísticas brasileiras também demonstram diferenças na sobrevida segundo os subtipos tumorais. Duarte Cintra e colaboradores (2012), relataram 67,8% de sobrevida global em cinco anos para TTN, inferior às taxas de 86,4% e 91,4%, referentes a tumores luminais A e B. Eisenberg, Vitral Pinto e Koifman (2013), constataram em pacientes com tumores de mama Triplo Negativos sem comprometimento de gânglios axilares, 69% de sobrevida global em cinco anos, tendendo à posterior estabilização, com taxa de 61,6% em 10 anos. Dentre os tumores NTN, encontraram sobrevidas de 82,2% e 70,1% em cinco e 10 anos respectivamente. Ressaltaram a importância dos parâmetros clínicos, principalmente do comprometimento cutâneo, e do grau histológico, assim como do Ki 67, como elementos de prognóstico e predição.

Em nossa pesquisa, é provável que o tipo histológico, grau tumoral, o Ki 67 não tenham se mantido significantes no estudo multivariado devido aos dados faltantes, o que constitui uma limitação da mesma. O infiltrado linfocitário se mostrou presente em quase 56% dos TTN, e em apenas 40% dos NTN, e o dado teve significância estatística no estudo descritivo, sendo mais um fator de diferenciação entre os grupos. Não se manteve na análise multivariada, mas mostrou significativo no estudo univariado, como fator de risco para a sobrevida em Triplo Negativos.

Nos parece que a relevância detectada na multicentricidade dos TTN neste nosso trabalho é um achado a ser valorizado, uma vez que representou fator prognóstico independente. Soma-se às informações de outras pesquisas já citadas, como elemento de individualização dos casos, e para o planejamento terapêutico.

A miscigenação racial da nossa população não parece particularizar os tumores Triplo negativos que nela incidem. As pacientes foram oriundas tanto do sistema público de saúde quanto da medicina privada, e o pequeno número de casos estudados constitui uma limitação deste trabalho, mas os achados são coerentes aos de outras publicações nacionais e estrangeiras. Conforme ressaltado por Palma et al, a heterogeneidade dos Triplo negativos é inter e intra tumoral, e o estudo das diferentes etnias e das múltiplas casuísticas, ainda não forneceu um ponto, ou uma alteração única, que indiscutivelmente possa servir de alvo terapêutico para o tratamento da doença (PALMA et al, 2015).

6.3 - Considerações

Retornamos ao início: cirurgiões e oncologistas quando tratam de cânceres de mama, necessitam de informações que indiquem com a maior aproximação possível, a natureza biológica do caso que estão abordando, a provável evolução e, a possível resposta às opções de tratamento. No tocante aos Tumores Triplo Negativos, percebem-se tentativas de aperfeiçoamento das classificações, mediante a conjugação dos aspectos moleculares, anatômicos e histológicos, na busca da individualização das pacientes. Informações de simples aquisição e baixo custo, como as citoqueratinas basais e o EGFR, devem fazer parte dos estudos já rotineiros de imunohistoquímica, porque auxiliam, com razoável acurácia, a identificação dos

tumores basais. Descrições da histo-morfologia passíveis de otimização, como: bordas e núcleos tumorais, acelularidade e necrose central (“CAZ”), multifocalidade, multicentricidade e infiltrado linfocitário graduado, são indicativas de resposta (ou não) à QT, principalmente se afastados aspectos de metaplasias sarcomatosas, secundárias aos fenômenos de transição epitélio mesenquimal, já suficientemente identificados e reconhecidos. O diálogo das equipes multidisciplinares que tratam do câncer de mama, certamente será ampliado quando se solicitarem aos patologistas maior detalhamento desses aspectos, com o fito de evitar tratamentos citotóxicos em tumores que não responderão, ou o farão de forma efêmera. Há por outro lado, uma parcela de TTN para a qual não se tem o tratamento-alvo, e os recursos de adjuvância conhecidos também não funcionam. Identificar essas mulheres ainda na fase de planejamento terapêutico é útil, até porque talvez sejam casos que exigirão cirurgias mais amplas e radicais; e eventualmente, sem o uso de QT. Dados adicionais auxiliam o encaminhamento das condutas, e dão aos profissionais segurança para o diálogo com a paciente e familiares.

7 - CONCLUSÕES

A) Nesta pesquisa as portadoras de Tumores Triplo Negativos apresentaram diferenças sociodemográficas marcantes em relação às Não triplo Negativas, já que houve significativo acúmulo de pacientes não brancas e predomínio de baixa e média escolaridade dentre as mesmas. Demonstraram uma dependência maior dos serviços públicos de saúde.

B) Os Tumores Triplo Negativos, na população estudada, mostraram-se mais graves ao diagnóstico, com dimensões proporcionalmente maiores, axilas mais comprometidas e estadiamento mais avançado. O grau tumoral elevado (III) foi muito mais frequente que nos NTN, bem como outros indicadores de agressividade tumoral como o Ki 67, o P53 elevado e a multifocalidade. O infiltrado linfocitário se mostrou frequente e, na análise univariada, representou fator de risco para a sobrevida dos TTN.

C) A sobrevida global, foi significativamente inferior nas portadoras de Tumores Triplo Negativos, apesar de tratamentos cirúrgicos mais radicais, e maior proporção de tratamentos quimioterápicos utilizados.

D) A sobrevida livre de doença foi significativamente inferior nas portadoras de tumores Triplo Negativos. As recorrências, além de mais comuns nas pacientes TTN, foram precoces, 70% delas ocorrendo em até 24 meses após o tratamento.

E) A classificação molecular por meio da imunoistoquímica foi capaz de selecionar, na população estudada, uma parcela de portadoras de Tumores Triplo Negativos, que se mostraram como neoplasias especiais, de pior prognóstico, candidatas a tratamentos diferenciados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ABDULRAHMAN JNR, G.A.; RAHMAN, G.A. Epidemiology of Breast Cancer in Europe and Africa.
Journal of Cancer Epidemiology, 2012.
Disponível em: <http://www.hindawi.com/journals/jce/2012/915610/>
Acesso em 10/10/2016.
- 2 - ADES, F. et al. Luminal B Breast Cancer: Molecular Characterization, Clinical Management, and Future Perspectives.
Journal of Clinical Oncology, v 32, n 25: 2794-800, 2014.
- 3 - ADKINS, F.C. et al. Triple-Negative Breast Cancer Is Not a Contraindication for Breast Conservation.
Ann Surg Oncol., v 18: 3164-73, 2011.
- 4 - AGRAWAL, L. S.; MAYER, I. A. Platinum agents in the treatment of early-stage triple-negative breast cancer: is it time to change practice?
Clin Adv Hematol Oncol. v 12, n 10: 654-8, 2014.
- 5 - AKINYEMIJU, T. F. et al. Socioeconomic status and incidence of breast cancer by hormone receptor subtype.
SpringerPlus, v 4: 508-16, 2015.
- 6 - AL HAJJ, M. et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells.
Proc Natl Acad Sci USA, v 100, n 7: 3983-87, 2003.
- 7 - ALBERGARIA, A. et al. Nottingham Prognostic Index in Triple-Negative Breast Cancer: a reliable prognostic tool?
BMC Cancer, v 11: 299-309, 2011.
Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/11/299>
Acesso em: 17/01/2015.
- 8 - ALBRECHT, C.A.M. et al. Mortalidade por câncer de mama em hospital de referência em oncologia, Vitória, ES.
Rev. Bras. Epidemiol. v 16, n 3: 582-91, 2013.
- 9 - ALTHUIS, M. D. et al. Etiology of hormone receptor-defined breast cancer: a systematic review of the literature.
Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. v 13, n 10: 1558-68, 2004.
- 10 - AMAT, S. et al. Scarf-Bloom-Richardson (SBR) grading: a pleiotropic marker of chemosensitivity in invasive ductal breast carcinomas treated by neoadjuvant chemotherapy.
Int J Oncol. v 20, n 4: 791-6, 2002.

- 11 - AMIN, M.B. et al. AJCC Cancer Staging Manual, 8th ed. 2017.
Disponível em: <https://www.cancerstaging.org/>
Acesso em: 08/11/2016.
- 12 - ANDERSON, K.N.; SCHWAB, R.B.; MARTINEZ M.E. Reproductive risk factors and breast cancer subtypes: a review of the literature.
Breast Cancer Res Treat., v 144, n 1: 1-10, 2014.
- 13 - ANDERSON, W.F.; JATOI, I.; DEVESA, F.F. 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., v 90, n 2: 127-37, 2005.
- 14 - BACALBASA, N; IONESCU, O. Triple Negative Breast Cancer. Current Therapeutic Options in The Neoadjuvant Setting.
Revista Medicală Română, v 63, n 1: 65-71, 2016.
- 15 - BADVE, S. et al. Basal-like and triple-negative breast cancers: a critical review with an emphasis on the implication for pathologists and oncologists.
Modern Pathology, v 24: 157-67, 2011.
- 16 - BAGARIA, S.P. et al. Personalizing breast cancer staging by the inclusion of ER, PR, and HER2.
JAMA Surg. V 149, n 2: 125-9, 2013.
Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14306257>
Acesso em: 21/05/2016.
- 17 - BALOGH, G.A. et al. Immune-Surveillance and Programmed Cell Death-Related Genes Are Significantly Over expressed in the Normal Breast Epithelium of Postmenopausal Parous Women.
Int J Oncol., v 31, n 2: 303-12, 2007.
- 18 - BANERJEE, S. et al. Basal-like breast carcinomas: clinical outcome and response to chemotherapy.
J Clin Pathol., v 59: 729-35, 2006.
- 19 - BARRIOS, C.H.; BUZAID, A.C.; ROCHA CRUZ M.; MAYER I. Tratamento Adjuvante. Mama.
In: Manual de Oncologia Clínica do Brasil 2012, 10a) ed. São Paulo, SP: Dendrix Edição e Design, 2012, p. 1-38.
- 20 - BARSKY, S. H.; KARLIN, N.J. Mechanisms of disease: breast tumor pathogenesis and the role of myoepithelial cell.
Nat Clin Pract Oncol., v 3, n 3:138-51, 2006.

- 21 - BAUER, K. R. et al. 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, v 109, n 9: 1721-28, 2007.
- 22 - BERG, A.O. et al. Recommendations from the EGGAP Working Group: can tumor gene expression profiling improve outcomes in patients with breast cancer?
Genet Med.,v 11, n 1: 66-73, 2009.
- 23 - BERTUCCI, F. et al. How are triple-negative breast cancers?
Int J Cancer. V 23, n 1:236-40, 2008.
- 24 - BIANCHINI, G. et al. Triple-negative breast cancer: challenges and opportunities of a heterogeneous disease.
Nat Rev Clin Oncol. V 13, n 11: 674-90, 2016.
- 25 - BLEICHER, R. J. et al. Time to Surgery and Breast Cancer Survival in the United States.
JAMA Oncology, v 2, n 3: 330-39, 2016.
- 26 - BLOWS, F.M. 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 10159 Cases from 12 Studies.
Plos Medicine, v 7, n 5: e 1000279, 2010.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1000279>
Acesso em 21/9/2014.
- 27 - BRADY-WEST, D.; Mc GROWDER, D.A. Triple-Negative Breast Cancer: Therapeutic and Prognostic Implications.
Asian Pacific J Cancer Prev., v 12: 2139-43, 2011.
- 28 - BRASIL. Ministério da Saúde. SISMA. Informações para o avanço das ações de controle do câncer de mama no Brasil. Rio de Janeiro, RJ, 2010.
- 29 - BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Sistema de Informações do Câncer. Manual preliminar de apoio à implantação. Rio de Janeiro, RJ, 2013.
- 30 - BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Diretrizes Nacionais para a Detecção Precoce do Câncer de Mama. Rio de Janeiro, RJ, 2015
- 31 - CALHOUN, B. C.; COLLINS, L. C. Predictive markers in breast cancer: An update on ER and HER2 testing and reporting.
Semin Diagn Pathol. 2015.
DOI: 10.1053/j.sendp.2015.02.011.Epub2015Feb17.

- 32 - CALLAGY, G.M. et al. Bcl-2 Is a Prognostic Marker in Breast Cancer Independently of the Nottingham Prognostic Index.
Clin Cancer Res. v 12, n 8: 2468-75, 2006.
- 33 - CAMERON, D. et al. Adjuvant bevacizumab-containing therapy in triple-negative breast cancer (BEATRICE): primary results of a randomized, phase 3 trial.
Lancet Oncol., v 14, n 10: 933-42, 2013.
- 34 - CAREY, L. A. et al. Race, Breast Cancer Subtypes, and Survival in the Carolina Breast Cancer Study.
JAMA, v 295, n 21: 2492-502, 2006.
- 35 - CAREY, L.A. et al. The triple-negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes.
Clin Cancer Res., v 13, n 8: 2329-34, 2007.
- 36 - CARIATI, M; PURUSHOTHAM A.D. Stem cells and breast cancer.
Histopathology, v 52: 99-107, 2008.
- 37 - CARVALHO, F.M. et al. Geographic differences in the distribution of molecular subtypes of breast cancer in Brazil.
BMC Women's Health v 14: 102-10, 2014.
- 38 - CHAO Y.L., SHEPARD C.R., WELLS, A. Breast carcinoma cells re-express E-cadherin during mesenchymal to epithelial reverting transition.
Mol Cancer; v 9: 179-97, 2010.
- 39 - CLARKE M. et al. Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomized trials.
Lancet, v 366, n 9503: 2087-106, 2005.
- 40 - CRISCITIELLO, C. et al. Understanding the biology of triple-negative breast cancer.
Annals of Oncology, v 23 (Suplemento 6), 2012
Doi: 10.1093/annonc/mds188.
- 41 - DARBY S. et al. Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10,821 women in 17 randomized trials.
Lancet, v 378, n 9804: 1707-16, 2011.
- 42 - Da SILVA, I.; CLARKE, C.; LAKAHANI, S.R. Demystifying basal-like breast carcinomas.
Disponível em: www.iclinpath.com
Acesso em 24/11/2015.

- 43 - De BROT, M. et al. Carcinomas mamários de tipo basal: perfil clínico patológico e evolutivo.
Rev Assoc Med Bras, v 55, n 5: 529-34, 2009.
- 44 - DELMONICO, L.; ALVES, G.; AMARAL, L.F.P. A Biologia do Câncer de Mama e Testes Moleculares de Prognóstico.
Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto, 2015
Disponível em: <http://revista.hupe.uerj.br/> Acesso em 25/3/18.
- 45 - DENT, R. et al. Triple-Negative Breast Cancer: Clinical Features and Patterns of Recurrence.
Clin Cancer Res, v 13, n 15: 4429-34, 2007.
- 46 - DHODAPKAR, M.V. et al. Prognostic factors in elderly women with metastatic breast cancer treated with tamoxifen: an analysis of patients entered on four prospective clinical trials.
Cancer; v 15: 683-90, 1996.
- 47 - DICKSON, R.B.; RUSSO, J. Controle Bioquímico do Desenvolvimento da Mama. In: Doenças da Mama- 2a) Edição. Rio de Janeiro, 2002. Capítulo 2, p. 17-37.
- 48 - DOOKERAN, K. A. et al. p53 as a marker of prognosis in African-American women with breast cancer.
Ann Surg Oncol. v 17, n 5: 1398-405, 2010.
- 49 - DUARTE CINTRA, J.R. et al. Perfil imuno-histoquímico e variáveis clinicopatológicas no câncer de mama.
Rev Assoc Med Bras. V 58, n 2: 178-87, 2012.
- 50 - DU, Y.I. et al. Blocking c-Met-mediated PARP 1 phosphorylation enhances anti-tumor effects of PARP inhibitors.
Nat Med., v 22, n 2: 194-201, 2016.
- 51 - EDGE, S. et al. AJCC Cancer Staging Manual, 7th ed. 2010.
Disponível em: <https://www.cancerstaging.org/>
Acesso em 08/11/2016.
- 52 - EISEMBERG, A. L. A.; VITRAL PINTO, I.; KOIFMAN S. Triple-Negative Breast Cancer in Brazilian Women without Metastasis to Axillary Lymph Nodes: Ten-Year Survival and Prognostic Factors.
British Journal of Medicine & Medical Research, v 3, n 4: 880-96, 2013.
- 53 - Elston, C.W.; Ellis, I.O. Pathological prognostic factors in breast cancer. Value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up.
Histopathology, v 19: 403-10, 1991.

- 54 - ENGEL, P. et al. CD Nomenclature 2015: Human Leukocyte Differentiation Antigen Workshops as a Driving Force in Immunology. *J Immunol.* v 195:4555-63, 2015
- 55 - ERCAN, C.; van DIEST, P.J.; VOOIJS M. Mammary Development and Breast Cancer: The Role of Stem Cells. *Curr Mol Med.*, v 11, n 4: 270-85, 2011.
- 56 - FERNANDES, G. S.; CALABRICH, A.; KATZ, A. Câncer de mama triplo negativo: aspectos clínicos, laboratoriais e terapêuticos. *Rev Bras Mastologia* v 19, n 2: 76-82, 2009.
- 57 - FILIPITS, M. et al. The PAM50 risk-of-recurrence score predicts risk for late distant recurrence after endocrine therapy in postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer. *Clin Cancer Res.* v 120 n 5: 1298-305, 2014.
- 58 - FOULKES, W.D.; SMITH, I.E.; REIS-FILHO, J.S. Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*, v 363: 1938-48, 2010.
- 59 - FULFORD, L. et al. Basal-like grade III invasive ductal carcinoma of the breast: patterns of metastasis and long-term survival. *Breast Cancer Res.*, v 9 n 1, 2007
Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1851397>
Acesso em 25/06/2015.
- 60 - EBCTG - Early Breast Cancer Trialist's Collaborative Group. Long-term outcomes for neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy in early breast cancer: meta-analysis of individual patient data from ten randomized trials. *Lancet Oncol.*, v 19: 27-39, 2018.
- 61 - GAGLIATO, D.M. et al. Clinical impact of delaying initiation of adjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *J Clin Oncol.* v 32, n 8: 435-44, 2014.
- 62 - GARBER, J., et al. Neo-adjuvant cisplatin (CDDP) in triple-negative breast cancer (BC). *Breast Cancer Res Treat.*, v 100: S149, 2006 (Abstr 3074).
- 63 - GILILAND, F.D. et al. Reproductive risk factors for breast cancer in Hispanic and non-Hispanic white women: the New Mexico Women's Health Study. *Am J Epidemiol*, v 148: 683-92, 1998.
- 64 - GIULIANO, A.E. et al. Ten-year survival results of ACOSOG Z 0011: A randomized trial of axillary node dissection in women with clinical T1-2 N0 M0 breast cancer who have a positive sentinel node (Alliance). 2016 ASCO Annual Meeting. *J Clin Oncol. Suppl*; 34, 2016.

- 65 - GOLDHIRSCH, A. et al. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Experts Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011.
Annals of Oncology. Doi: 10.1093/annonc/mdr304.
- 66 - GRADISHAR, W.J. et al. Invasive Breast Cancer Version 1, 2016, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology.
J Natl Compr Canc Netw., v 14, n 3: 324-54, 2016.
- 67 - GRAY, J.A.M. New concepts in screening.
British Journal of General Practice, 54: 292-98, 2004.
- 68 - GREEN, A. R. et al. Identification of key clinical phenotypes of breast cancer using a reduced panel of protein biomarkers
British Journal of Cancer, v 109, n 7: 1886-94, 2013.
- 69 - GREENE, F.L.; SOBIN, L.H. The staging of Cancer: A Retrospective and Prospective Appraisal.
CA Cancer J Clin., v 58: 180-90, 2008.
- 70 - GUDJONSSON, T. et al. Myoepithelial Cells: Their Origin and Function in Breast Morphogenesis and Neoplasia.
J Mammary Gland Biol Neoplasia, v 10, n 3: 261-72, 2005.
- 71 - GUERRA, M. R. et al. Sobrevida de cinco anos e fatores prognósticos em coorte de pacientes com câncer de mama assistidas em Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.
Cadernos de Saúde Pública, v 25, n 11, 2009.
- 72 - HAAGENSEN, C. D. Diseases of the Breast. 3 ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company, 1986. 1050p.
- 73 - HANAHAN, D.; WEIMBERG R.A. Hallmarks of cancer: the next generation.
Cell. v 144, n 5: 646-74, 2011.
- 74 - HARRIS, JA. Estadiamento e História Natural do Câncer de Mama.
In: Doenças da Mama. 2. Ed. Rio de Janeiro - RJ: MEDSI Editora Médica e Científica Ltda, 2002. 1364p. p 483-487.
- 75 - HUANG, E. et al. Gene expression predictors of breast cancer outcomes.
Lancet, v 10, n 361 (9369): 1590 - 96, 2003.
- 76 - HUDIS, C.A. et al. Proposal for Standardized Definitions for Efficacy End Points in Adjuvant Breast Cancer Trials: The Steep System.
Journal of Clin Oncol, v 25: 2127-31, 2007.

77 - INCA - Home page. TNM.

Disponível em: www1.inca.gov.br/inca/relatórios/rel-98/dtc.html

Acesso em 26/8/2014.

78 - INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. 2018

Disponível em www.inca.gov.br.

Acesso em 22 / 3 /2018.

79 - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER.

GLOBOCAN: Cancer Today, 2012.

80 - INWALD, E.C. et al. KI-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: results of a large population-based cohort of cancer registry.

Breast Cancer Res Treat, v 139: 539-52, 2013.

81 - ISHIKAWA, Y. et al. Triple-negative breast cancer: Histological subtypes and immunohistochemical and clinicopathological features.

Cancer Sci., v 102, n 3: 656-62, 2010.

82 - ISHITHA, G. et al. Clinicopathological Study of Triple Negative Breast Cancers

J Clin Diagn Res., v 10, n 9: EC 05-EC09, 2016.

83 - ISAKOFF, S.J. et al. TBCRC009: A Multicenter Phase II Clinical Trial of Platinum Monotherapy with Biomarker Assessment in Metastatic Triple-Negative Breast Cancer.

J Clin Oncol., v 10; 33, n 17: 1902-9, 2015.

84 - JAMA Oncol. 2015. The Global Burden of Cancer 2013.

Jama Oncol., v 1, n 4: 505-27, 2015.

doi: 10.1001/jamaoncol.2015.0735

85 - JAMA Oncol 2017 Special Communication. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived with Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015.

JAMA Oncol., v 3, n 4: 524-48, 2017.

86 - KAO, J. et al. Clinical Predictors of Survival for Patients with Stage IV Cancer Referred to Radiation Oncology.

PLOS one, Doi: 10.1371/journal.pone.0124329

Acesso em 20/4/2015.

87 - KAUFMANN, M; PUSZTAI L. Use of Standard Markers and Incorporation of Molecular Markers Into Breast Cancer Therapy.

Consensus Recommendations from an International Expert Panel

Cancer, v 15: 1575-82, 2011.

- 88 - KIM, S. et al. Comparisons of Oncologic Outcomes between Triple-Negative Breast Cancer (TNBC) and Non-TNBC among Patients Treated with Breast-Conserving Therapy
Yonsei Med J, v 57 n 5: 1192-98, 2016.
- 89 - KIM, T. et al. Predictive Significance of p53, KI-67 and Bcl-2 Expression for Pathologic Complete Response after Neoadjuvant Chemotherapy for Triple-Negative Breast Cancer.
J Breast Cancer, v 18, n 1: 16-21, 2015.
- 90 - KREIKE, B. et al. Gene expression profiling and histopathological characterization of triple-negative / basal-like breast carcinomas.
Breast Cancer Res, v 9, n 5, 2007. doi: 10.1186/bcr1771.
- 91 - KWAN, M. L. et al. Epidemiology of breast cancer subtypes in two prospective cohort studies of breast cancer survivors.
Breast Cancer Research, 2009. Doi: 10.1186/bcr2261.
- 92 - LAVASANI, M.A.; MOINFAR, F. Molecular classification of breast carcinomas with particular emphasis on "basal-like" carcinoma: A critical review.
J. Biophotonics, v 5, n4: 345-66, 2012.
- 93 - LEHMANN, B.D. et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies.
J Clin Invest., v 121, n 7: 2750-67, 2011.
- 94 - LIPPONEN, P. Apoptosis in breast cancer: relationship with other pathological parameters.
Endocrine-Related Cancer, v 6: 13-16, 1999
- 95 - LORD, S.J. et al. Breast cancer risk and hormone receptor status in older women by parity, age of first birth, and breastfeeding: a case-control study.
Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. v 17, n 7: 1723-30.
- 96 - MA, H. et al. Reproductive factors and breast cancer risk according to joint estrogen and progesterone receptor status: a meta-analysis of epidemiological studies.
Breast Cancer Research, v 8, n 4: r 43.
Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16859501>.
Acesso em:20/1/2015.
- 97 - MACKAY, A. et al. Microarray-Based Class Discovery for Molecular Classification of Breast Cancer: Analysis of Interobserver Agreement.
J Natl Cancer Inst. v 103, n 8: 662-73, 2011.

98 - MALTONI, M. et al. Prognostic Factors in Advanced Cancer Patients: Evidence-Based Clinical Recommendations - A Study by the Steering Committee of the European Association for Palliative Care.
Journal of Clin Oncol., v 23, n 25: 6240-48, 2005.

99 - MALZAHN, K. et al. Biological and prognostic significance of stratified epithelial cytokeratins in infiltrating ductal breast carcinomas.
Virchow Arch., v 433, n 2: 119-29, 1998.

100 - MCDivitt, R. W. Breast cancer multicentricity.
Monogr Pathol., v 25: 139-48, 1984.

101 - MOLLER, H. et al. Short-term breast cancer survival in relation to ethnicity, stage, grade and receptor status: national cohort study in England.
Br J Cancer, v 22, n 15: 1408-15, 2016.

102 - MOLYNEUX, G.; REAGAN, J.; SMALLEY, M.J. Mammary stem cells and breast cancer.
Cell. Mol. Life Sci., v 64: 3248-60, 2007.

103 - MOLYNEUX, G.; GEYER, F. C. et al. BRCA1 basal-like breast cancers originate from luminal epithelial progenitors and not from basal stem cells.
Cell Stem Cell, v 7, n 3: 403-17, 2010.

104 - MONTAGNA, E. et al. Heterogeneity of Triple-Negative Breast Cancer: Histologic Subtyping to Inform Outcome.
Clinical Breast Cancer, v 13 n 1: 31-9, 2013.

105 - MOON, H.G. et al. Effect of invasive foci on breast cancer outcomes according to the molecular subtypes: a report from the Korean Breast Cancer Society.
Ann Oncol., v 24: 2298-304, 2013.

106 - NANDA, R. et al. Pendroluzimab in Patients with Advanced Triple-Negative Breast Cancer: Phase 1b KEYNOTE-012 Study.
J Clin Oncol. V 34, n 21: 2460-7, 2016.

107 - NAKAI, k., HUNG, MC.; YAMAGUCHI, H. A perspective on anti- EGFR therapies targeting triple-negative breast cancer.
Am J Cancer Res., v 6, n 8: 1609-23, 2016.

108 - NERI, A. et al. Clinical significance of multifocal and multicentric breast cancers and choice of surgical treatment: a retrospective study on a series of 1158 cases.
BMC Surg., 2015. Disponível em: www.ncbi.nlm.gov/pubmed/25586679.
Acesso em: 30/1/2018.

109 - NIELSEN, T.O. et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma.
Clin Cancer Res., v 10, n 16: 5367-74, 2004.

110 - NOWSHEEN, S. et al. Synthetic Lethal Interactions between EGFR and PARP Inhibition in Human Triple Negative Breast Cancer Cells. PLOS ONE, V 7, N 10, 2012. Disponível em: www.plosone.org Acesso em 14/ 12 /2016.

111 - Office For National Statistics, UK. Statistical Bulletin: Cancer Statistics Registration, England: 2012. Use and users of Cancer Statistics.

112 - OMARINI, C. et al. Neoadjuvant treatments in triple-negative breast cancer patients: were we are now and were we are going. Cancer Manag Res., v 15, n10: 91-103, 2018

113 - O' SHAUGHNESSY, J. et al. Phase III Study of Iniparib Plus Gemcitabine and Carboplatin Versus Gemcitabine and Carboplatin in Patients with Metastatic Triple-Negative Breast Cancer. Journal of Clinical Oncology, v 32, n 34, 2014.

114 - PALMA, G. et al. Triple negative breast cancer: looking for the missing link between biology and treatments. Oncotarget, v 6, n 29: 26560-74, 2015.

115 - PARK, Y.H. et al. Clinical relevance of TNM staging system according to breast cancer subtypes. Ann of Oncol, 22: 1554-60, 2011.

116 - PARISE, C.A.; CAGGIANO, V. Breast Cancer Survival Defined by the ER/PR/HER2 Subtypes and a Surrogate Classification According to Tumor Grade and Immunohistochemical Biomarkers. Journal of Cancer Epidemiology, Id 469251, (11 pages), 2014.

117 - PATEL, T.A. et al. Breast Cancer in Latinas: Gene Expression, Differential Response to Treatments, and Differential Toxicities in Latinas Compared with Other Population Groups. The Oncologist, v 15: 466-75, 2010.

118 - PENA, S.D.J. et al. The Genomic Ancestry of Individuals from Different Geographical Regions of Brazil Is More Uniform Than Expected. PLoS ONE, v 6: e17063, 2011. doi: 10.1371/journal.pone.0017063.

119 - PETRELLI, F. et al. The value of platinum agents as neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancers: a systematic review and meta-analysis. Breast Cancer Res Treat. V 144, n 2: 223-32, 2014.

120 - PEROU, C.M., et al. Molecular portraits of human breast tumors. Nature, v 406, n 6797: 747-52, 2000.

- 121 - PICCART-GEBHART, M. et al. Adjuvant Lapatinib and Trastuzumab for Early Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Breast Cancer: Results from the Randomized Phase III Adjuvant Lapatinib and/or Trastuzumab Treatment Optimization Trial.
Disponível: <http://jco.ascopubs.org/cgi/doi/1200/jco.2015.62.1797>.
Acesso em 06/ 01/ 2016.
- 122 - POLYAK, K.; HU, M. Do myoepithelial cells hold the key for breast tumor progression?
J Mammary Gland Biol Neoplasia, v 10, n 3: 231-47, 2005.
- 123 - PRASAD, S et al. Failure patterns and survival outcomes in triple-negative breast cancer (TNBC): a 15 year comparison of 448 non-Hispanic black and white women. SpringlerPlus, v 5: 756-63, 2016.
- 124 - PRAT, A.; PEROU, C.M. Deconstructing the molecular portraits of breast cancer.
Mol Oncol., v 5, n 1: 5-23, 2011.
- 125 - PRAT, A. et al. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer.
Breast Cancer Research, 2010.
Disponível em: <http://breastcancerresarch.com/content/12/5/R68>
Acesso em 21/9/2013.
- 126 - QIU J et al. Comparison of Clinicopathological Features and Prognosis in Triple-Negative and Non-Triple Negative Breast Cancer.
Journal of Cancer; v 7: 167-73, 2016.
- 127 - RAKHA, E. A. et al. Prognostic Markers in Triple-Negative Breast Cancer.
Cancer, v 109, n 1: 26-33, 2006.
- 128 - RAKHA, E. A. et al. Nottingham Prognostic Index Plus (NPI +): a modern clinical decision making tool in breast cancer.
British Journal of Cancer, v 110: 1688-97, 2014.
- 129 - RAJ PANDEY, P.; SAIDOU, J.; WATABE, K. Role of myoepithelial cells in breast tumor progression.
Front Biosci., v 15: 226-36, 2011.
- 130 - RASTOGI P. et al. Preoperative chemotherapy: updates of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocols B-18 and B-27.
J Clin Oncol., v 26: 778-785, 2008.
- 131 - RIBEIRO, A.A.; NARDOCCI, A. C. Desigualdades socioeconômicas na incidência e mortalidade por câncer: revisão dos estudos ecológicos, 1998 - 2008.
Saúde Soc. São Paulo, v 22, n 3: 878-91, 2013.

132 - RIBEIRO SOARES, L. et al. Mortalidade por câncer de mama feminino no Brasil de acordo com a cor.
Rev. Bras. Ginecol. Obstet., v 37, n 8: 388-93, 2015.

133 - RITTE, R; TIKK, K.; LUKANOVA, A. et al. Reproductive factors and risk of hormone receptor positive and negative breast cancer: a cohort study. BMC Cancer, v 13, p: 584, 2013
Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/13/584>.
Acesso em 10/9/2016.

134 - RODRIGUES, A.C. et al. Recorrências no carcinoma da mama: características em função do intervalo livre de doença.
Acta Obstet Ginecol Port., v 4, n 3: 119-25, 2010.

135 - ROOZENDAAL, L. M. et al. Risk of regional recurrence in triple-negative breast cancer patients: a Dutch cohort study.
Breast Cancer Res Treat., v 156: 465-72, 2016.

136 - SESTAK, L. et al. Prediction of late distant recurrence after 5 years of endocrine treatment: a combined analysis of patients from the Austrian breast and colorectal cancer study group 8 and arimidex, tamoxifen alone or in combination randomized trials using the PAM50 risk of recurrence score.
J Clin Oncol., v 10, n 33(8): 916-22, 2015.

137 - SETIAWAN, V.W. et al. Breast Cancer Risk Factors Defined by Estrogen and Progesterone Receptor Status. The Multiethnic Cohort Study.
Am J Epidemiol., v 169: 1251-59, 2009.

138 - SHNEIDER, I.J.C.; D'ORSI, E. Sobrevida em cinco anos e fatores prognósticos em mulheres com câncer de mama em Santa Catarina, Brasil.
Cadernos de Saúde Pública, v 25, n 6: 1285-96, 2009.

139 - SILVER, D. P. et al. Efficacy of neoadjuvant Cisplatin in triple-negative breast cancer.
J Clin Oncol., v 28, n 7: 1145-53, 2010.

140 - SINN, H.P.; KREIPE, H. A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition.
Breast Care (Basel), v 8, n 2: 149-54, 2013.
Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3683948/>
Acesso em: 17/01/2015.

141 - SOBIN, L.H. TNM: evolution and relation to other prognostic factors.
Semin Surg Oncol., v 21, n 1: 3-7, 2003.
Greene, F.L., Sobin, L.H. The Staging of Cancer: A Retrospective and Prospective Appraisal.
CA Cancer J Clin., 58: 180-90, 2008.

142 - SORLIE, T. et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications.
Proc Natl Acad Sci USA, V 98, n 19: 10869 -74, 2001.

143 - SOUZA SILVA, E.H.L. et al. Estudo comparativo de resposta à quimioterapia neoadjuvante em dose total, entre câncer de mama e metástase axilar, conforme resultados de imunoistoquímica, no Serviço de Mastologia do Hospital Amaral Carvalho em Jaú, SP.
Rev Bras Mastologia, v 25, n 2: 46-50, 2015.

144 - SPARARANO, J.A. et al. Breast Cancer Staging. Updated in 30/12/2015
Medscape Reference.
Disponível em: emedicine.medscape.com/article/2007112-overview
Acesso em 08/11/2016.

145 - STANTON, S. E.; ADAMS, S.; DISIS, M. L. Variation in the Incidence and Magnitude of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer Subtypes: A Systematic Review.
JAMA Oncol., v 2, n 10: 1354-60, 2016.

146 - STEFANSSON, O. A. et al. Genomic profiling of breast tumors in relation to BRCA abnormalities and phenotypes.
Breast Cancer Res., v 11, n 4, 2009.
Disponível em: <http://breast-cancer-research.com/content/11/4/R47>
Acesso em: 20/12/2016.

147 - STEINTHAL, C.F. Zur Dauerheilung des Brustkrebses.
Breit. Z. kiln. Chir., 47: 226, 1905.
In: HAAGENSEN, C. D. Diseases of the Breast. 3 ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company, 1986. 1050p.

148 - STERNLICHT, M.D. Key stages in mammary gland development: The cues that regulate ductal branching morphogenesis.
Breast Cancer Research, v 8: 201, 2006
Disponível em: <http://breast-cancer-research.com/content/8/1/201>
Acesso em 20/1/2016.

149 - TIEZZI, D.G. Câncer de mama: um futuro desafio para o sistema de saúde nos países em desenvolvimento.
Rev. Bras. Ginecol. Obstet. Editorial. V 32, n 6: 257-59, 2010.

150 - TIEZZI, D.G.; VALEJO, F.A.M.; PIMENTEL, F.F. Bases moleculares da história reprodutiva na prevenção do câncer de mama.
Femina v 37, n 7: 379-83.

151 - TIEZZI, D.G. et al. CD44+/CD24- cells and lymph node metastasis in stage I and II invasive ductal carcinoma of the breast.
Med Oncol., 29: 1479-85, 2012.

152 - TUTT A. et al. Oral poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet*, 376 (9737): 235-244, 2010.

153 - Van de RIIN, M. et al. Expression of Cytoqueratins 17 and 5 Identifies a Group of Breast Carcinomas with Poor Clinical Outcome. *Am J Pathol.*, v 161, n 6: 1991-96, 2002.

154 - VAN'T VEER, I.J. et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*, v 415, n 6871: 530 - 36, 2002.

155 - VERA-BADILLO, F.E. et al. Effect of multifocality and multicentricity on outcome in early stage breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.*, v 146: 235-44, 2014.

156 - VERMA, S.; PROVENCHER, L.; DENT R. Emerging trends in the treatment of triple-negative breast cancer in Canada: a survey. *Current Oncology*, v 18, n 4: 180-85, 2011.

157 - VIEIRA, D. S. C. et al. Carcinoma de mama: novos conceitos na classificação. *Rev Bras Ginecol Obstetr.*, v 30, n 1: 42-47, 2008

158 - WANG, S et al. Response to neoadjuvant therapy and disease-free survival in patients with triple-negative breast cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* v 36, n 2: 255-58, 2009.

159 - WAHBA, H. A.; EL-HADAAD, H. A. Current approaches in treatment of triple-negative breast cancer. *Cancer Biol Med.*, v 12: 106-16, 2015.

160 - WATLINGTON, A., et al. Does having insurance affect differences in clinical presentation between Hispanic and non-Hispanic white women with breast cancer? *Cancer*, v 109: 2093-99, 2007.

161 - WEIGELT, B.; GEYER, F.C. et al. The molecular underpinning of lobular histological growth factor: a genome-wide transcriptomic analysis of invasive lobular carcinomas and grade-and molecular subtype-matched invasive ductal carcinomas of no special type. *J Pathol.*, v 220, n 1: 45-57, 2010.

162 - WEIGELT, B. et al. Breast cancer molecular profiling with single sample predictors: a retrospective analysis. *Lancet Oncol.* v 11, n 4: 339-49, 2010.

163 - WILLIAMS, A. D. et al (Manuscript). Immunotherapy for Breast Cancer: Current and Future Strategies.

Curr Surg Rep. Available in PMC April 2018.

Acesso em 19 / 04 /2018.

164 - WOLFF, A.C. et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology / College of American Pathologists clinical practice guideline update.

Arch Patol Lab Med., v 138, n 2: 241-56, 2014.

165 - WONG, H et al. Lobular breast cancers lack the inverse relationship between ER/PR status and cell growth rate characteristic of ductal cancers in two independent patient cohorts: implications for tumor biology and adjuvant therapy.

BMC Cancer, v 14: 826, 2014. doi: [10.1186/1471-2407-14-826](https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-826)

166 - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cancer control: knowledge into action: WHO Guide for effective programs, 2007. Geneve, 2007.

Disponível em: <http://www.who.int/cancer/modules/en/>

Acesso em: 15/9/2016.

167 - YANG, X.R. et al. Association of Breast Cancer Risk Factors With Tumor Subtypes. A Pooled Analysis from The Breast Cancer Association Consortium Studies.

JCNI, v 103, n 3, p: 250-263, 2011.

168 - ZANETTI, J.S.; OLIVEIRA, L.R.; RIBEIRO-SILVA, A. Câncer De Mama: De Perfis Moleculares A Células Tronco.

Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações, v 9, n 1: 277-92, 2011.

Doi: <http://dx.doi.org/10.5892/RUVRV.91.277292>.

169 - ZHAN, Q.H. et al. Survival and time to initiation of adjuvant chemotherapy among breast cancer patients: a systematic review and meta-analysis.

Oncotarget. v 9, n 2: 2739-51, 2017.

170 - ZHANG, L. et al. Androgen Receptor, EGFR, and BRCA1 as Biomarkers in Triple-Negative Breast Cancer: A Meta-Analysis.

Biomed Res Int., 2015. 357485, 2015.

Doi: [10.1155/2015/357485](https://doi.org/10.1155/2015/357485).

ANEXO I

Survival study of triple-negative and non-triple-negative breast cancer
in a Brazilian cohort

Survival Study of Triple-Negative and Non-Triple-Negative Breast Cancer in a Brazilian Cohort

Homero Gonçalves Jr^{1,2} , Maximiliano Ribeiro Guerra^{3,4},
Jane Rocha Duarte Cintra¹, Vivian Assis Fayer³, Igor Vilela Brum⁵
and Maria Teresa Bustamante Teixeira^{2,3}

¹Instituto Oncológico de Juiz de Fora/Hospital 9 de Julho, Juiz de Fora, Brazil. ²Post-Graduate Program in Health, Faculty of Medicine, Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, Brazil. ³Post-Graduate Program in Public Health, Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, Brazil. ⁴Inserm U900, Institut Curie, PSL Research University, Paris, France. ⁵Faculty of Medicine, Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, Brazil.

Clinical Medicine Insights: Oncology
Volume 12: 1–10
© The Author(s) 2018
Reprints and permissions:
sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav
DOI: 10.1177/1179554918790563



ABSTRACT

OBJECTIVE: To analyze the clinical, pathological, and sociodemographic aspects between triple-negative breast cancer (TNBC) and non-TNBC in a Brazilian cohort and identify potential prognostic factors.

METHODS: This hospital-based retrospective cohort study included 447 women with breast cancer treated at referral centers in Southeastern Brazil. Overall and disease-free survival were compared; prognostic factors were evaluated.

RESULTS: Triple-negative breast cancer corresponded to 19.5% of breast cancer diagnosis and was more prevalent among nonwhite and less educated women. The patients with TNBC tended to present with stage III cancer, high p53 expression, lymphocytic infiltration, and multifocality and treated with radical surgery and chemotherapy. The 5-year overall and disease-free survival were 62.1% and 57.5% for TNBC and 80.8% and 75.3% for non-TNBC, respectively ($P < .001$). The TNBC recurrence was associated with multicentricity, whereas lymph node involvement increased the risk of both recurrence and death. Non-TNBC worse clinical course was associated with nonwhite ethnicity, lower education level, lymph node involvement, and advanced stage.

CONCLUSIONS: Triple-negative breast cancer exhibited a more aggressive behavior, earlier and more frequent recurrence, and worse survival compared with non-TNBC. While biological and social variables were associated with poorer prognosis in non-TNBC, only lymph node involvement and multicentricity were correlated with worse clinical outcomes in TNBC.

KEYWORDS: Breast neoplasms, triple-negative breast cancer, survival analysis

RECEIVED: May 7, 2018. **ACCEPTED:** June 19, 2018.

TYPE: Triple-Negative Breast Cancer - Original Research

FUNDING: The author(s) received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

DECLARATION OF CONFLICTING INTERESTS: The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

CORRESPONDING AUTHOR: Homero Gonçalves Jr, Post-Graduate Program in Health, Faculty of Medicine, Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Eugenio do Nascimento Avenue, Juiz de Fora 36038-330, Minas Gerais, Brazil. Email: homerogjr@gmail.com

Introduction

The high heterogeneity of breast cancer explains in part the differences in the morbidity and mortality of this disease. In that sense, molecular and genetic profiling of breast tumors, as well as their classification, has led to a greater diagnostic accuracy, better prediction of patients' clinical evolution, and more appropriate treatment strategies.^{1,2}

Triple-negative breast cancer (TNBC) is a specific subset of tumors characterized by the absence of the 3 most commonly targeted biomarkers considered for breast cancer treatment: estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and human epidermal growth factor receptor (HER2).³ The TNBC accounts for 15% to 20% of all breast cancer diagnoses and usually has a more aggressive clinical course, with worse evolution within the first 3 to 5 years after diagnosis; early and higher rates of distant recurrences, typically visceral; and poor survival.^{3–5} There are differences in the natural history and prognosis within TNBC. Recent studies, using next-generation sequencing, for instance, have shown that TNBC is

actually a group of distinct tumors displaying different clinical and biological features.^{6–8}

It has been proposed to classify TNBC into subgroups: basal-like 1 and 2, mesenchymal, and luminal androgen receptor.⁶ Novel targets, such as the epithelial growth factor receptor, have emerged as a new drug target. BRCA1 mutation studies have raised expectations for the use of DNA-damaging agents and androgen receptors in the management of TNBC. However, the response to therapy varies considerably, making it difficult to establish a treatment that covers all cases, as a single target has not yet been identified.^{6–8}

Anthracycline and taxane-based chemotherapy has traditionally been the mainstay of TNBC therapy in clinical practice.⁹ Therefore, part of the patients, notably those with initial tumors, receives aggressive treatment without significant improvement in overall survival but rather a worsening quality of life. This scenario highlights the need to research drugs capable of overcoming chemoresistances and reduce the damage of cytotoxic therapy.^{9,10}



Identifying TNBC with a high probability of responding to traditional chemotherapy poses a challenge in current clinical practice. The role of cell proliferation markers, especially the nuclear antigen Ki67, has been emphasized as a prognostic marker and predictor of response to chemotherapeutic regimens, although an optimal cutoff point has not yet been defined.^{11–13} Lymphocytic infiltration has also been found to be a prognostic and predictive marker of response to both neo-adjuvant and adjuvant therapies.^{14–16}

Therefore, studies are needed to enhance the understanding of the TNBC spectrum, to improve current management and patient outcome. It is possible that tumor grade, histological type, lymphocytic infiltration, and cell division markers would have some interface with the complex information of genetic and molecular assays, thus providing estimates of clinically relevant TNBC subgroups.^{16–18} How these parameters occur in TNBC and their relation to survival and disease relapse have been inadequately investigated in Brazil. This study thus aimed to identify clinical and pathological features in a cohort of Brazilian women diagnosed with breast cancer, comparing TNBC with non-TNBC tumors, and to assess possible associations of the parameters with recurrence and survival.

Patients and Methods

Study population

This hospital-based retrospective cohort study comprised women diagnosed with breast cancer between 2003 and 2005. They were assisted at a public and a private referral center for cancer care in the city of Juiz de Fora, state of Minas Gerais, Brazil. The patients were identified through the Hospital Registry of Cancer, and data were obtained through a standardized form from the medical records of both cancer and breast specialists.

A total of 563 patients were initially identified. Women diagnosed with carcinoma in situ were excluded ($n=45$), as well as those with distant metastasis at diagnosis ($n=39$). In addition, 32 patients were excluded because of missing information on the immunochemistry profile. The final cohort consisted of 447 patients, who were classified into 2 groups: TNBC, when tumors were negative for ER, PR, and HER2 ($n=87$), and non-TNBC, for all other cases ($n=360$).

The immunohistochemical analysis was performed in the hospitals' accredited laboratory following standard criteria. It started with tissue deparaffinization, followed by antigen recovery using wet heat and buffers. Blockage of peroxidases was performed, and specific antibodies were added: SP1 and SP2 for estrogen and progesterone and SP3 or 4B5 for HER2 (dilution: 1/250). The bound antibodies were displayed by the streptavidin-biotin system. A tumor was classified as positive for ER and PR when $>10\%$ of tumor cell nuclei expressed these antigens. For HER2, a positive score of 3+ for membrane staining was required, whereas those with scores of + and 2+ were sent to fluorescence in situ hybridization. This approach meets

the American Society of Clinical Oncology 2007 and 2013 recommendations. All laboratory reports were revised.

Study variables

The following sociodemographic variables were analyzed: age at diagnosis (in years); ethnicity (white or nonwhite); education level (high [secondary school or higher], moderate [primary school], or low [incomplete primary school or illiterate]). The nature of the oncology service (public or private) was also analyzed. Variables related to tumor characteristics included anatomopathological tumor size (≤ 2.0 and >2.0 cm), histological type, lymph node involvement, staging according to TNM classification,¹⁹ lymphocytic infiltration (presence or absence), Ki67 (low $\leq 25\%$ and high/moderate $\geq 26\%$), p53, multifocality, and multicentricity. Treatment variables were surgery type (radical or conservative) and additional therapy (chemotherapy).

Follow-up

A 5-year follow-up of each patient was conducted based on the consultation of medical records and was complemented by search in the Brazilian Mortality Information System (SIM) of Minas Gerais, telephone contact, consultation of the National Health Registry, and Brazilian individual registration number (CPF).

The diagnosis date (corresponding to the date of the histopathological disease report) was considered the starting point for the analysis of overall survival, and all-cause mortality was used as failure in this case. Disease-free survival was defined as the interval between the first treatment and recurrence (locoregional recurrence, metastasis, or death from any cause).²⁰ Patients who remained alive until December 31, 2010 (the end of follow-up), were censored. The date of the last contact was used to define the end point for loss to follow-up.

Data analysis

Differences in the distribution of study variables between TNBC and non-TNBC were evaluated by χ^2 test. Survival functions were calculated using the Kaplan-Meier method, and the log-rank test was used to compare the survival curves. Prognostic factors of overall survival and disease-free survival were analyzed by the Cox proportional hazards model, and the hazard ratios (HRs) were calculated with a 95% confidence interval (CI). Variables that presented P values of $<.25$ in the univariate Cox model were included in the multivariate model. The risk proportionality assumption was validated by the Schoenfeld residue analysis. For variables with missing data (tumor grade, Ki67, and p53), a comparative study was performed, considering tumor profile, recurrence, metastasis, and death as dependent variables. No significant differences were found between patients with missing data and other patients,

showing that data losses were random, which made the analysis of those variables possible. A 5% level of significance was used for all tests. The IBM Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 21 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) was used for all statistical analyses.

The study design was approved by the Ethics Committee of Universidade Federal de Juiz de Fora (protocol no. 151.219 of November 22, 2012). The need for informed consent was waived owing to the noninterventional design of the survey and full data protection.

Results

The TNBC accounted for 19.5% of the 447 patients. The mean age at diagnosis did not differ between the groups, and significant differences were identified for ethnicity and educational level, with TNBC being more prevalent in nonwhite women and those with moderate and low education level. The TNBC tended to present at diagnosis with lymphocytic infiltration ($P=.02$), multifocality ($P=.04$), tumor size of >2 cm ($P=.06$), and stage III tumors ($P=.09$), and to express high levels of p53 ($P=.04$) and Ki67 ($P=.09$). The patients with TNBC showed significantly higher percentages of radical surgery and chemotherapy. When outcomes were compared, the TNBC group presented a higher frequency of early recurrences, defined as up to 24 months ($P=.02$), and death in 5 years ($P<.001$) (Table 1).

The 5-year overall and disease-free survival rates for the entire patient population were 77% and 72%, respectively. Overall survival was 62% for TNBC and 81% for non-TNBC, and disease-free survival was 57% for TNBC and 75% for non-TNBC (log-rank $P<.001$; Figure 1). The median survival time was 46 months (95% CI: 42-51) for TNBC versus 55 months (95% CI: 54-57) for non-TNBC, and the median disease-free interval was 43 months (95% CI: 38-48) and 53 months (95% CI: 41-54), respectively.

Overall survival: TNBC, 62.7% (95% CI: 51.9-71.2); non-TNBC, 81.1% (95% CI: 76.3-84.5); log-rank test $P<.001$.

Disease-free survival: TNBC, 57.5% (95% CI: 46.4-67.1); non-TNBC, 75.3% (95% CI: 70.5-79.4); log-rank test $P<.001$.

Univariate Cox regression analysis showed that the risk of recurrences (HR: 2.23; 95% CI: 1.52-3.28) and risk of death (HR: 2.97; 95% CI: 1.96-4.50) were higher in TNBC compared with non-TNBC. In non-TNBC patients, the risk of recurrence was higher among patients aged <40 years, of nonwhite ethnicity, with lower education level, and with tumors larger than 2 cm, of grade III and at stage III. Lymph node involvement, p53, Ki67, and chemotherapy treatment were also associated with higher recurrence in this group. In patients with TNBC, only lymph node involvement and staging were associated with recurrence (Table 2).

Overall survival in TNBC was negatively associated with lymph node involvement, stage III, and metastasis during the course of the disease. For the non-TNBC group, poorer survival was observed in patients of nonwhite ethnicity, with lower

education level, who were attended in the public health sector, with tumors larger than 2 cm, of grade III and at stage III, lymph node involvement, elevated Ki67, and metastasis during the course of the disease (Table 3).

The multivariate analysis revealed that lymph node involvement appears to increase the risk of recurrence and mortality in patients with TNBC. Multicentricity was also associated with a higher risk of death in this group. In non-TNBC patients, the risk of recurrence was higher in those with lower education level and lymph node involvement, and survival was worse in nonwhite women and those with advanced-stage tumors (Table 4). For all multivariate models, the proportional hazards assumption was confirmed overall and separately for each variable by the scaled Schoenfeld residual test.

Discussion

This study described the clinical, pathological, and sociodemographic characteristics of patients with TNBC and non-TNBC in a medium-size city in Southeastern Brazil, which is a regional reference for cancer care. The TNBC prevalence in this study is in accordance with the literature, as it accounts for 10% to 20% of all breast cancers.^{2,5,21} The TNBC was more likely to be found in nonwhite women than non-TNBC, which is expected because TNBC is more common in women of African ancestry or Hispanic ethnicity.^{22,23} Despite lower incidences of breast cancer in black and Hispanic women, studies have persistently shown that these women are more commonly affected by tumors with increased severity and worse outcomes.²²⁻²⁵

Although TNBC is frequently diagnosed in younger patients,^{2,5,21} the mean age at diagnosis in our study cohort was 57 years, which may partly reflect late diagnosis or difficult access to health care services. The higher percentage of TNBC in women with lower education level and assisted in the public health sector is consistent with the higher occurrence of TNBC in socially disadvantaged populations.^{22,26} Other demographic variables such as parity, breastfeeding, reproductive status, and family history did not seem to differ in the 2 groups.

Similar to findings in other studies, the 5-year overall and disease-free survival were worse in women with TNBC.^{2,4,5,21,22,27} About 38% of patients with TNBC died during the 5-year follow-up, compared with only 19% of non-TNBC patients. Recurrences were observed in 43% of patients with TNBC, compared with 25% in non-TNBC patients. Not only were recurrences more prevalent in the TNBC group but they also occurred earlier in the course of the disease. In the patients with TNBC, 67.5% of recurrences were found within the first 2 years and 83.7% within the first 3 years after diagnosis, whereas in the non-TNBC group, these values were 40.4% and 62.9%, respectively. These recurrence rates were higher than those observed in a Chinese cohort (2016), in which the 5-year recurrence was 27.5% in the patients with TNBC and 13.4% in non-TNBC patients; the 5-year overall survival rates were 88.5% and 95.5%,²⁸ respectively, higher than those found

Table 1. Distribution of variables according to breast cancer subtype (Juiz de Fora, Brazil, 2003-2005).

VARIABLE	BREAST CANCER SUBTYPE			P VALUE
	TOTAL	TNBC, NO. (%)	NON-TNBC, NO. (%)	
No. of patients	447	87 (19.5)	360 (80.5)	
Age at diagnosis	447	57 (±13)	58 (±14)	.49
Ethnicity	422			.001
White	340	57 (67.9)	283 (83.7)	
Nonwhite	82	27 (32.1)	55 (16.3)	
Education level	404			.007
High	166	22 (27.8)	144 (44.3)	
Moderate	68	21 (26.6)	47 (14.5)	
Low	170	36 (45.6)	134 (41.2)	
Family history of cancer	416			.3
Positive	120	19 (24.1)	101 (30)	
Negative	296	60 (75.9)	236 (70)	
Health service	447			.14
Public	220	49 (56.3)	171 (47.5)	
Private	227	38 (43.7)	189 (52.5)	
Tumor size, cm	438			.06
>2	257	58 (67.4)	199 (56.5)	
≤2	181	28 (32.6)	153 (43.5)	
Lymph node involvement	437			.64
Positive	198	40 (47.6)	158 (44.8)	
Negative	239	44 (52.4)	195 (55.2)	
Staging	446			.09
I	124	18 (20.9)	106 (29.4)	
II	190	35 (40.7)	155 (43.1)	
III	132	33 (38.4)	99 (27.5)	
Histological type	446			.21
Invasive ductal	352	73 (83.9)	279 (77.7)	
Invasive lobular	56	6 (6.9)	50 (13.9)	
Other	38	8 (9.2)	30 (8.4)	
Tumor grade	337			<.001
I	111	10 (14.9)	101 (37.4)	
II	158	33 (49.3)	125 (46.3)	
III	68	24 (35.8)	44 (16.3)	
Lymphocytic infiltration	427			.02
Positive	186	44 (55.7)	142 (40.8)	
Negative	241	35 (44.3)	206 (59.2)	

Table 1. (Continued)

VARIABLE	BREAST CANCER SUBTYPE			P VALUE
	TOTAL	TNBC, NO. (%)	NON-TNBC, NO. (%)	
Ki67	349			.09
≤25%	94	15 (19.5)	79 (29)	
≥26%	255	62 (80.5)	193 (71)	
p53	336			.04
≤25%	230	37 (57.8)	193 (71)	
≥26%	106	27 (42.2)	79 (29)	
Multifocality	423			.04
Positive	35	11 (14.1)	24 (7)	
Negative	388	67 (85.9)	321 (93)	
Multicentricity	422			.25
Positive	21	6 (7.7)	15 (4.4)	
Negative	401	72 (92.3)	329 (95.6)	
Surgery	442			.01
Radical	217	53 (61.6)	164 (46.1)	
Conservative	225	33 (38.4)	192 (53.9)	
Chemotherapy	447			.001
Yes	308	73 (83.9)	235 (65.3)	
No	139	14 (16.1)	125 (34.7)	
Recurrence	447			.001
Yes	126	37 (42.5)	89 (24.7)	
No	321	50 (57.5)	271 (75.3)	
Time to recurrence, mo	126			.02
Up to 24	61	25 (67.5)	36 (40.4)	
25-36	26	6 (16.2)	20 (22.5)	
37-60	39	6 (16.2)	33 (37.1)	
5-y overall survival	447			<.001
Dead	102	33 (37.9)	69 (19.2)	
Alive	345	54 (62.1)	291 (80.8)	

Abbreviation: TNBC, triple-negative breast cancer.
Total varies due to missing data.

in our study (62.1% in TNBC and 80.8% in non-TNBC). These differences are probably due the fact that 28% of TNBC and 14% of non-TNBC were diagnosed at stage III (advanced stage) in the Chinese cohort, whereas in our study, these rates were 38% and 28%, respectively. In a Taiwan cohort study, worse survival was also observed in the patients with TNBC, but disease-free survival had no difference when compared with non-TNBC patients.²⁹

Survival rates in this study were also similar to those found in another Brazilian cohort, in which TNBC women without lymph node involvement had a survival rate of 69% in 5 years and 61.6% in 10 years. Among non-TNBC patients, the survival was 82.2% and 70.1% in 5 and 10 years, respectively. In that study, skin involvement, histological grade, and Ki67 were identified as prognostic and predictive factors.²⁷ In another Brazilian study, the 5-year survival was 67.8% in TNBC, which

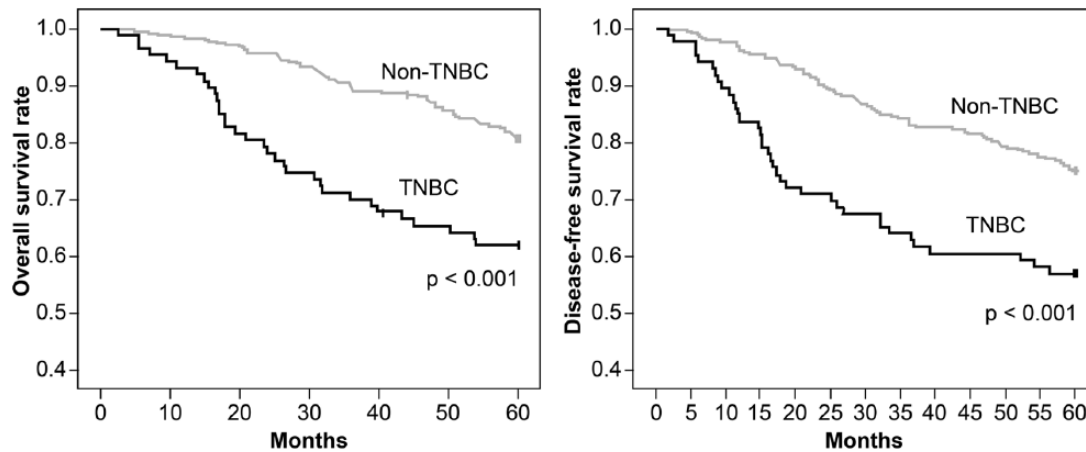


Figure 1. Overall and disease-free survival in patients with triple-negative breast cancer (TNBC) and non-TNBC (Juiz de Fora, Brazil, 2003-2005).

Table 2. The 5-year disease-free survival estimated by univariate Cox analysis for 447 women diagnosed with breast cancer (Juiz de Fora, Brazil, 2003-2005).

VARIABLE	TNBC			NON-TNBC		
	HR	95% CI	P VALUE	HR	95% CI	P VALUE
Age at diagnosis, y						
<40 vs ≥40	1.15	0.28–4.77	.85	1.91	1.10–3.34	.02
Ethnicity						
Nonwhite vs white	1.47	0.76–2.88	.26	1.91	1.16–3.16	.01
Education level						
Low/moderate vs high	1.55	0.67–3.58	.3	1.92	1.19–3.10	.01
Health services						
Public vs private	1.16	0.60–2.24	.66	1.4	0.92–2.12	.12
Chemotherapy						
Yes vs no	0.9	0.38–2.17	.82	1.74	1.08–2.82	.02
Tumor size, cm						
>2 vs ≤2	1.4	0.67–2.90	.37	2.58	1.59–4.19	<.001
Lymph node involvement						
Positive vs negative	2.15	1.07–4.31	.03	2.28	1.47–3.53	<.001
Tumor grade						
III vs I-II	0.88	0.42–1.82	.73	2.23	1.28–3.89	.01
Staging						
III vs I-II	1.89	0.98–3.64	.05	3.89	2.56–5.90	<.001
p53						
Moderate/high vs low	1.07	0.53–2.16	.86	1.88	1.16–3.05	.01
Ki67						
Moderate/high vs low	0.91	0.39–2.11	.83	2.06	1.08–3.94	.03
Multifocality						
Yes vs no	1.53	0.63–3.68	.34	1.62	0.81–3.22	.17

Table 2. (Continued)

VARIABLE	TNBC			NON-TNBC		
	HR	95% CI	P VALUE	HR	95% CI	P VALUE
Multicentricity						
Yes vs no	2.46	0.87–7.01	.09	1.7	0.74–3.90	.21
Lymphocytic infiltration						
Positive vs negative	1.47	0.74–2.92	.27	1	0.65–1.54	.99

Abbreviations: CI, confidence interval; HR, hazard ratio; TNBC, triple-negative breast cancer.

Table 3. The 5-year overall survival estimated by univariate Cox analysis for 447 women diagnosed with breast cancer (Juiz de Fora, Brazil, 2003-2005).

VARIABLE	TNBC			NON-TNBC		
	HR	95% CI	P VALUE	HR	95% CI	P VALUE
Age at diagnosis, y						
<40 vs ≥40	1.06	0.25–4.43	.94	1.65	0.87–3.15	.13
Ethnicity						
Nonwhite vs white	1.51	0.75–3.04	.25	2.41	1.41–4.12	.001
Education level						
Low/moderate vs high	1.66	0.68–4.08	.27	2.05	1.17–3.61	.01
Health services						
Public vs private	1.42	0.70–2.89	.33	1.82	1.13–2.46	.01
Chemotherapy						
Yes vs no	0.75	0.31–1.81	.52	1.34	0.79–2.25	.27
Tumor size						
>2 vs ≤2 cm	1.37	0.63–2.95	.43	3.29	1.82–5.94	<.001
Lymph node involvement						
Positive vs negative	2.72	1.27–5.82	.01	2.25	1.36–3.73	.002
Metastasis						
Positive vs negative	13.5	5.36–34.03	<.001	14.75	8.42–25.83	<.001
Tumor grade						
III vs I-II	1.01	0.47–2.19	.98	2.87	1.55–5.29	.001
Staging						
III vs I-II	2.18	1.09–4.37	.03	3.93	2.44–6.32	<.001
p53						
Moderate/high vs low	1.06	0.50–2.23	.88	1.51	0.86–2.63	.15
Ki67						
Moderate/high vs low	0.98	0.40–2.40	.97	2.12	1.00–4.50	.05
Multifocality						
Yes vs no	1.51	0.62–3.68	.37	0.81	0.29–2.22	.68

(Continued)

Table 3. (Continued)

VARIABLE	TNBC			NON-TNBC		
	HR	95% CI	P VALUE	HR	95% CI	P VALUE
Multicentricity						
Yes vs no	2.67	0.93–7.65	.07	1.79	0.72–4.45	.21
Lymphocytic infiltration						
Positive vs negative	1.57	0.75–3.28	.23	1.01	0.50–1.35	.82

Abbreviations: CI, confidence interval; HR, hazard ratio; TNBC, triple-negative breast cancer.

Table 4. The 5-year disease-free and overall survival estimated by multivariate Cox analysis for 447 women diagnosed with breast cancer (Juiz de Fora, Brazil, 2003-2005).

VARIABLE	DISEASE-FREE SURVIVAL			OVERALL SURVIVAL		
	HR	95% CI	P VALUE	HR	95% CI	P VALUE
TNBC						
Lymph node involvement						
Positive vs negative	2.28	1.12–4.57	.02	2.8	1.26–6.25	.012
Multicentricity						
Yes vs no	—	—	—	4.11	1.17–14.36	.027
Non-TNBC						
Ethnicity						
White vs nonwhite	—	—	—	2.01	1.17–3.45	.01
Education level						
Low/moderate vs high	1.91	1.14–3.22	.01	—	—	—
Lymph node involvement						
Positive vs negative	1.81	1.14–2.90	.01	—	—	—
Staging II						
II vs I	—	—	—	3.06	1.16–8.05	.02
Staging III						
III vs I	—	—	—	8.36	3.27–21.36	<.001

Abbreviations: CI, confidence interval; HR, hazard ratio; TNBC, triple-negative breast cancer. All models were adjusted for age at diagnosis, in continuous format.

was lower compared with non-TNBC subtypes (86.4% for luminal A tumors and 91.4% for luminal B tumors).³⁰

Here, lymph node involvement was a prognostic factor for both mortality and recurrence in the TNBC group, representing a nearly 3 times risk of mortality. The same was observed in an American cohort, in which a 5-year overall survival of 80% was reported for the patients with TNBC without lymph node involvement, compared with 65% in those with up to 3 positive lymph nodes.³¹ The 5-year survival in this study decreased from 77.3% to 50% ($P=.004$) in the patients with TNBC in the case of positive lymph node involvement.

Our study confirms recent findings on the prognostic role of multicentricity in TNBC, which has been related to higher cell proliferation indexes and tendency to early axillary involvement.^{32,33} A recent meta-analysis including 67557 patients with breast carcinoma identified multifocality or multicentricity in 9.5% of them. On multivariate analysis, multicentricity was associated with worse overall survival (HR: 1.65; $P=.02$),³⁴ which is similar to the findings of our study. It seems, therefore, that due to its relevance and independent prognostic value, multicentricity should be considered in the individual management and treatment of patients with TNBC.³⁵

In the non-TNBC group, lymph node involvement was associated with more frequent recurrence and advanced-stage tumors were related to worse survival. The mortality in patients with non-TNBC diagnosed at stage III was 8 times higher compared with that at stage I. In addition to biological variables, sociodemographic variables such as ethnicity and education level were associated with poorer outcomes in non-TNBC, which has also been identified in several studies.^{22–24,26} Those variables possibly did not remain statistically significant on multivariate analysis in TNBC due to the smaller sample size of this group. However, it remains unclear as to what extent the prognosis of TNBC can be attributable to sociodemographic and biologic variables,³⁶ although this study's findings support the second one.

The small sample size, its retrospective design, and performing this study in only one city were major limitations. However, the standardized method of data collection, the use of stratified multivariate models, and the analysis of data from both private and public sectors probably resulted in less likely bias. The statistical analysis showed that data losses were random, partially overcoming the missing data limitation. Finally, the miscegenation of the Brazilian population needs to be considered when comparing the results with other populations. It is noteworthy that despite this factor, patients with TNBC and non-TNBC patients still presented markedly different characteristics, which were generally similar to other population groups. The heterogeneity of TNBC is inter- and intratumoral, and different population studies have yet to provide a common factor that could be used in the therapy of this disease.

Conclusions

The TNBC exhibited distinct sociodemographic and tumor characteristics, as it was more prevalent in nonwhite and less educated women and was diagnosed at a later stage of the disease. This tumor subtype tended to display a worse clinical course, with earlier and more frequent recurrence and worse 5-year survival, compared with non-TNBC. A more aggressive behavior was notably seen in patients with TNBC with lymph node involvement and multicentricity, important clinical features to be considered in the management of these patients.

Acknowledgements

The authors would like to thank Editage (www.editage.com) for English language editing and Publication Support. Part of this paper was taken from the doctoral thesis of the first author developed in the Post-Graduate Program in Health of the Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil.

Author Contributions

All authors contributed to the conception of the work; participated in the analysis and interpretation of data; performed a critical review of its content; and approved the final manuscript.

ORCID iD

Homero Gonçalves Jr  <https://orcid.org/0000-0001-5960-1482>

REFERENCES

- Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, 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:e1000279.
- Fernandes GS, Calabrich A, Katz A. Câncer de mama triplo-negativo: aspectos clínicos, laboratoriais e terapêuticos. *Rev Bras Mastol.* 2009;19:76–82.
- Anders CK, Abramson V, Tan T, Dent R. The evolution of triple-negative breast cancer: from biology to novel therapeutics. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2016;35:34–42.
- Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000;406:747–752.
- Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med.* 2010;363:1938–1948.
- Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest.* 2011;121:2750–2767.
- Prat A, Parker JS, Karginova O, et al. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2010;12:R68. doi:10.1186/bcr2635.
- Zhang L, Fang C, Xu X, Li A, Cai Q, Long X. Androgen receptor, EGFR, and BRCA1 as biomarkers in triple-negative breast cancer: a meta-analysis. *Biomed Res Int.* 2015;2015:357485. doi:10.1155/2015/357485.
- Palma G, Frasci G, Chirico A, et al. Triple negative breast cancer: looking for the missing link between biology and treatments. *Oncotarget.* 2015;6:2560–2574.
- Barrios CH, Buzaid AC, Rocha Cruz M, et al. *Manual de Oncologia Clínica do Brasil.* 10th ed. São Paulo: Dendrix; 2012:1–38.
- Esposito A, Criscitiello C, Curigliano G. Highlights from the 14th St Gallen International Breast Cancer Conference 2015 in Vienna: dealing with classification, prognostication, and prediction refinement to personalize the treatment of patients with early breast cancer. *Ecancermedicalscience.* 2015;9:518–529.
- O'Shaughnessy J, Schwartzberg L, Danso MA, et al. Phase III study of iniparib plus gemcitabine and carboplatin versus gemcitabine and carboplatin in patients with metastatic triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol.* 2014;32:3840–3847.
- Inwald EC, Klinkhammer-Schalke M, Hofstadter F, et al. Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: results of a large population-based cohort of a cancer registry. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;139:539–552.
- Pruneri G, Vingiani A, Bagnardi V, et al. Clinical validity of tumor-infiltrating lymphocytes analysis in patients with triple-negative breast cancer. *Ann Oncol.* 2016;27:249–256.
- Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *Lancet Oncol.* 2018;19:40–50.
- Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology.* 1991;19:403–410.
- Montagna E, Maisonneuve P, Rotmensz N, et al. Heterogeneity of triple-negative breast cancer: histologic subtyping to inform the outcome. *Clin Breast Cancer.* 2013;13:31–39.
- Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, 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;22:1736–1747. doi:10.1093/annonc/mdr304.
- Gradishar WJ, Anderson BO, Balassanian R, et al. Invasive breast cancer version 1.2016, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2016;14:324–354.
- Hudis CA, Barlow WE, Costantino JP, et al. Proposal for standardized definitions for efficacy end points in adjuvant breast cancer trials: the STEEP system. *J Clin Oncol.* 2007;25:2127–2131.
- 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;109:1721–1728.
- Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA.* 2006;295:2492–2502.

23. Lara-Medina F, Pérez-Sánchez V, Saavedra-Pérez D, et al. Triple-negative breast cancer in Hispanic patients: high prevalence, poor prognosis, and association with menopausal status, body mass index, and parity. *Cancer*. 2011;117:3658–3669.
24. Patel TA, Colon-Otero G, Hume CB, Copland JA 3rd, Perez EA. Breast cancer in Latinas: gene expression, differential response to treatments, and differential toxicities in Latinas compared with other population groups. *Oncologist*. 2010;15:466–475.
25. Lindner R, Sullivan C, Offor O, et al. Molecular phenotypes in triple negative breast cancer from African American patients suggest targets for therapy. *PLoS ONE*. 2013;8:e71915.
26. Vona-Davis L, Rose DP. The influence of socioeconomic disparities on breast cancer tumor biology and prognosis: a review. *J Womens Health*. 2009;18:883–893.
27. Eisenberg ALA, Pinto IV, Koifman S. Triple-negative breast cancer in Brazilian women without metastasis to axillary lymph nodes: ten-year survival and prognostic factors. *Br J Med Med Res*. 2013;3:880–896.
28. Qiu J, Xue X, Hu C, et al. Comparison of clinicopathological features and prognosis in triple-negative and non-triple negative breast cancer. *J Cancer*. 2016;7:167–173.
29. Lin C, Chien SY, Chen LS, et al. Triple negative breast carcinoma is a prognostic factor in Taiwanese women. *BMC Cancer*. 2009;9:192.
30. Cintra JRD, Bustamante-Teixeira MT, Diniz RW, et al. Perfil imuno-histoquímico e variáveis clinicopatológicas no câncer de mama. *Rev Assoc Med Bras*. 2012;58:178–187.
31. Hernandez-Aya LF, Chavez-MacGregor M, Lei X, et al. Nodal status and clinical outcomes in a large cohort of patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 2011;29:2628–2634.
32. Kanumuri P, Hayse B, Killelea BK, et al. Characteristics of multifocal and multicentric breast cancers. *Ann Surg Oncol*. 2015;22:2475–2482.
33. Moon HG, Han W, Kim JY, et al. Effect of multiple invasive foci on breast cancer outcomes according to the molecular subtypes: a report from the Korean Breast Cancer Society. *Ann Oncol*. 2013;24:2298–2304.
34. Vera-Badillo FE, Napoleone M, Ocana A, et al. Effect of multifocality and multicentricity on outcome in early stage breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;146:235–244.
35. Neri A, Marrelli D, Megha T, et al. Clinical significance of multifocal and multicentric breast cancers and choice of surgical treatment: a retrospective study on a series of 1158 cases. *BMC Surg*. 2015;15:1.
36. Kang SP, Martel M, Harris LN. Triple negative breast cancer: current understanding of biology and treatment options. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2008;20:40–46.