

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**A EXPRESSÃO DO RECEPTOR ANDRÓGENO EM UMA SÉRIE  
DE TUMORES DE MAMA TRIPLO-NEGATIVOS**

Mirian Luisa Pedron

Porto Alegre

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**A EXPRESSÃO DO RECEPTOR ANDRÓGENO EM UMA SÉRIE  
DE TUMORES DE MAMA TRIPLO-NEGATIVOS**

Mirian Luisa Pedron

Dissertação entregue para obtenção de título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Silveira Graudenz

Porto Alegre

2014

### CIP - Catalogação na Publicação

PEDRON, MIRIAN LUISA

A EXPRESSÃO DO RECEPTOR ANDRÓGENO EM UMA SÉRIE DE  
TUMORES DE MAMA TRIPLO-NEGATIVOS / MIRIAN LUISA  
PEDRON. -- 2013-2014.

97 f.

Orientadora: MARCIA GRAUDENZ.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa  
de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto  
Alegre, BR-RS, 2013-2014.

1. CÂNCER DE MAMA. 2. MARCADORES IMUNO-  
HISTOQUÍMICO. 3. RECEPTOR DE ANDRÓGENO. 4. TRILPO-  
NEGATIVO. I. GRAUDENZ, MARCIA, orient. II. Título.

A todos os colegas da pesquisa científica que pensam em ajudar de alguma forma os seres que habitam este mundo evoluindo o conhecimento através de hipóteses.

## Agradecimentos

- Aos meus familiares **João Maximiliano, Petci, Luiz Maria Yordi**, que me apoiaram de maneira intensa, principalmente o João, pelo incentivo constante e participação direta.
- Ao **Prof. Dr. Carlos Menke**, por ter indicado o estudo sobre os marcadores moleculares – caminhos difíceis mas de crescimento, e pela indicação da Dra. Marcia Graudenz como orientadora.
- Aos **familiares**, mesmo distantes, que me deram a formação acadêmica.
- À minha orientadora **Profa. Dra. Marcia Graudenz**, pelas sugestões e ensinamentos práticos em Patologia e Introdução à Oncogenética.
- Ao **Prof. Dr. Diego Uchôa**, pelos seus ensinamentos profundos sobre a oncogênese mamária.
- A todos os **funcionários** do PPGCM, pelo grande apoio desde o início. **Vera Ribeiro** e **Rodrigo Peçanha**, sem vocês eu estaria ainda procurando caminhos para chegar a uma conclusão.
- À **Profa. Dra. Sidia Callegari**, pela grande contribuição e carinho em todos os momentos em que foi solicitada.
- Aos funcionários do GPPG, pelas orientações iniciais: **Pablo Carretos** e **Anderson Martins**.
- Às acadêmicas **Betina Franciosi** e **Giovana Tessmann**, que colaboraram muito na realização do trabalho.
- À **Mariza de Oliveira** e **Gabriela Remonatto**, do Departamento de Patologia.
- Agradeço imensamente a todos os **professores** e **funcionários do Hospital de Clínicas de Porto Alegre**, com os quais tive contato durante a realização do Mestrado.
- Aos meus auxiliares **Jonathan Leitzke, Alessandra Rodrigues, Patrícia Souza** e **Zeni Ferreira**.

*A arte é um órgão da vida humana  
transmitindo a percepção racional  
dos homens para o campo do  
sentimento.*

*Leon Tolstói (1828/1910)*

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** Carcinomas de mama triplo-negativos (CMTN) constituem um grupo de tumores heterogêneos caracterizados por sobrevida pobre dos pacientes e falta de terapia-alvo. Receptor andrógênio (AR) tem sido descrito no CMTN, mas o impacto prognóstico da expressão nesse subgrupo não está bem claro. **OBJETIVO:** Investigar a associação do *status* de expressão AR analisado por imuno-histoquímica em casos de CMTN com parâmetros clínicos (idade, sobrevida) e variáveis patológicas (tamanho do tumor, grau do tumor). **MÉTODOS:** Foram analisados 62 CMTN por imuno-histoquímica automatizada para receptor andrógênio. A imuno-histoquímica foi avaliada por dois diferentes patologistas e a expressão do biomarcador foi avaliada por H-Score (intensidade mais percentagem de coloração). Kaplan-Meyer foi o método usado para avaliar a sobrevida global, tendo as diferenças nas distribuições sido avaliadas com base na expressão do marcador. **RESULTADOS:** 26% dos CMTNs foram AR positivos (n = 16) e 74% AR negativos (n = 46). Todos os casos de AR positivos ocorreram em mulheres  $\geq 40$  anos enquanto 13% dos casos de AR negativos foram vistos em mulheres  $\leq 40$  anos. 93% (52/56) de todos os CMTNs foram carcinoma ductal invasivo do tipo não especial (ICNST) e 93% (14/15) de AR positivos dos casos de ICNST. O tamanho do tumor variou de 2 a 4,9 cm na maioria dos cânceres AR positivos (n = 8/13; 62%). 60% (n = 9/15) dos casos de AR positivos mostraram grau histológico 3 seguidos de 27% de tumores de grau 2. Não se observou diferença entre pacientes AR positivos e AR negativos quando comparados por idade, tamanho do tumor, grau do tumor e tipo do tumor ( $p > 0,17$ ). A positividade imuno-histoquímica para ARs também não foi associada com melhor sobrevida ( $p = 0,737$ ; n = 51) ou sobrevida livre da doença ( $p = 0,552$ ; n = 45) em CMTNs. **CONCLUSÃO:** Sob o ponto de vista do prognóstico, a imunorreatividade do AR tem sido associada com melhor sobrevida das pacientes. Esse resultado não foi confirmado na presente série. Isso poderia estar relacionado com o pequeno tamanho amostral ou com uma baixa prevalência de casos de AR positivos especificamente nesse subtipo de câncer de mama. Estudos realizados com maiores amostras são necessários para investigar esse biomarcador em CMTNs.

**Palavras-chave:** Câncer de mama; Marcadores imuno-histoquímicos; Receptor de andrógênio; Triplo-negativo.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Triple negative breast carcinomas (TNBC) are a heterogeneous group of tumors characterized by poor patient survival and lack of targeted therapies. Androgen receptor (AR) has been described in TNBC but the prognostic impact of the expression in this subgroup of tumors is not clear. **OBJECTIVE:** To investigate the association of AR expression status by immunohistochemistry in TNBC cases with clinical (age, survival) and pathological variables (tumor size, tumor grade). **METHODS:** 62 TNBC were analyzed by automated immunohistochemistry for androgen receptor. Immunohistochemistry was scored by two investigators and biomarker expression was assessed by H-Score (intensity plus the percentage of staining). Kaplan-Meier was used to evaluate overall survival, where differences in distributions were evaluated based on marker expression. **RESULTS:** 26% of TNBC were AR-positive (n = 16) and 74% AR negative (n = 46). All AR-positive cases occurred in women  $\geq$  40 years, while 13% of AR-negative cases were seen in women  $\leq$  40 years. 93% (52/56) of all TNBC were infiltrating ductal carcinomas of no special type (ICNST) and 14/15 (93%) of AR-positive cases were ICNST. Tumor size varied from 2-4.9 cm in the majority of AR-positive cancers (n = 8/13; 62%). 60% (n = 9/15) of AR-positive cases showed histological grade 3 tumors, followed by 27% of grade 2 tumors. No differences were observed between AR-positive and AR-negative patients when compared for age, tumor size, tumor grade and tumor type (all  $p > 0.17$ ). AR immunohistochemical positivity was also not associated with better overall survival ( $p = 0.737$ , n = 51) or disease-free survival ( $p = 0.552$ ; n = 45) in TNBCs. **CONCLUSION:** From the prognostic point of view, AR immunoreactivity has been associated with better overall patient survival. Unfortunately, this result could not be confirmed in our series. This could be related to the relatively small series of analyzed samples and to the low prevalence of AR-positive cases in this specific breast cancer subtype. Further studies with bigger samples are needed to investigate this biomarker in TNBC.

**Key words:** Androgen receptor; Breast Cancer; Immunohistochemical markers; Triple negative.



## Lista de Ilustrações

Figura 1 - Estrutura morfológica da mama .....	21
Figura 2 - Histologia esquemática do epitélio mamário.....	22
Figura 3 - Desenvolvimento molecular da célula de mama.....	23
Figura 4 - Diagrama esquemático dos tumores triplo-negativos <i>versus basal-like</i> ....	33
Figura 5 - Mortalidade dos tumores triplo-negativos ao longo dos anos .....	34
Figura 6 - Tempo livre de metástases dos tumores triplo-negativos ao longo dos anos .....	35
Figura 7 - Andrógeno e receptor andrógeno .....	37
Figura 8 - Desenho esquemático do gene do receptor andrógeno (topo) e da proteína (abaixo). .....	38

## Lista de Tabelas

Tabela 1- Incidência estimada para todos os cânceres em mulheres, exceto pele não melanoma, no Brasil.....	18
Tabela 2- Classificação histológica de tumores de mama segundo a 4ª edição da OMS (2012).....	25
Tabela 3 - Tipos tumorais epiteliais raros segundo a 4ª edição da classificação de tumores da mama da OMS (2012) .....	26
Tabela 4- Sistema de graduação de Nottingham .....	27
Tabela 5 - Subtipos moleculares de câncer de mama com seus respectivos fenótipos .....	31
Tabela 6 - A percentagem da positividade de receptor andrógeno encontrada por diferentes autores.....	42
Tabela 7 - Resumo dos modelos de linhagens celulares positivas para receptor andrógen .....	44
Tabela 8 - A relação entre RA e características clinicopatológicas em pacientes CMTN e não CMTN.....	50
Tabela 9 - Análise univariada das características clinicopatológicas e prognóstico em CMT .....	51
Tabela 10 - Correlação entre RA e diferentes subtipos de câncer de mama e sobrevida.....	52

## Lista de Abreviaturas e Siglas

CMTN – Carcinoma de mama triplo-negativo.....	6
IDCNST – Carcinoma ductal Invasivo do tipo não especial.....	6
RA – Receptor de androgênio.....	6
CM – Câncer de mama.....	13
HER2 – Receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2.....	14
RE – Receptor de estrogênio.....	14
RP – Receptor de progesterona.....	14
EGFR – Receptor do fator de crescimento epitelial.....	15
VEGF – Fator de crescimento de endotélio vascular.....	15
mTOR – Alvo molecular da rapamicina.....	15
OMS – Organização Mundial da Saúde.....	18
INCA – Instituto Nacional do Câncer.....	19
BRCA 1- <i>Breast câncer gene 1</i> .....	20
BRCA 2- <i>Breast câncer gene 2</i> .....	20
ALDH 1- Aldeído desidrogenase 1.....	23
PCR – Resposta patológica completa.....	36

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>17</b>
2.1 ESTRATÉGIAS PARA LOCALIZAR E SELECIONAR AS INFORMAÇÕES....	17
2.2 EPIDEMIOLOGIA.....	17
2.3 MORFOLOGIA MAMÁRIA .....	21
2.4 CARCINOGENESE MAMÁRIA .....	22
2.5 CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DE TUMORES DA MAMA.....	24
2.6 AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DOS CARCINOMAS DE MAMA.....	27
2.7 CLASSIFICAÇÕES DOS SUBTIPOS MOLECULARES DE CÂNCER DE MAMA .....	28
2.8 CARCINOMAS DE MAMA TRIPLO-NEGATIVOS E BASAL-LIKE .....	31
2.9 AÇÃO DOS ANDRÓGENOS E RECEPTORES ANDRÓGENOS NA MAMA..	36
2.10 RECEPTOR ANDRÓGENO E CÂNCER DE MAMA.....	40
2.11 PREVALÊNCIA DO RECEPTOR ANDRÓGENO NOS CARCINOMAS DE MAMA TRIPLO-NEGATIVOS .....	41
2.12 EXPRESSÃO DO RECEPTOR ANDRÓGENO EM DIFERENTES TIPOS HISTOLÓGICOS DO CARCINOMA DE MAMA TRIPLO-NEGATIVO .....	43
2.13 LINHAGENS DE CÉLULAS DE CARCINOMA DE MAMA TRIPLO- NEGATIVAS E A EXPRESSÃO DO RECEPTOR ANDRÓGENO .....	43
2.14 AÇÕES DICOTÔMICAS DOS ANDRÓGENOS EM CARCINOMAS DE MAMA TRIPLO-NEGATIVOS .....	46
<b>2.14.1 Ausência de efeito protetor</b> .....	<b>46</b>
<b>2.14.2. Efeito protetor</b> .....	<b>47</b>
2.15 CARCINOMAS APÓCRINOS NO ESPECTRO DOS CARCINOMAS DE MAMA TRIPLO-NEGATIVOS .....	54
2.16 RECEPTOR ANDRÓGENO COMO ALVO TERAPÊUTICO NOS CARCINOMAS DE MAMA TRIPLO-NEGATIVOS .....	55
<b>3 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>57</b>
<b>4 OBJETIVOS</b> .....	<b>58</b>
4.1 OBJETIVO PRIMÁRIO.....	58
4.2 OBJETIVO SECUNDÁRIO .....	58

<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>60</b>
<b>6 ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS</b> .....	<b>72</b>
<b>7 FINAL CONSIDERATIONS AND FUTURE FORECASTS</b> .....	Erro! Indicador não definido.
<b>8 ANEXO</b> .....	Erro! Indicador não definido.
8.1 FICHA DE COLETA DE DADOS .....	97

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama (CM) é a neoplasia maligna de maior incidência e a maior causa de mortalidade da mulher brasileira, representando 20% dos casos de neoplasia e 5% das mortes. A maioria dos CMs ocorre entre 45 e 55 anos de idade. No entanto, tem se verificado um aumento significativo do número de casos em faixas etárias mais jovens, mundialmente. Apesar da crescente incidência, a mortalidade por CM vem diminuindo na maior parte do Hemisfério Ocidental. O CM é considerado o maior problema de saúde pública no mundo (1).

A diminuição da mortalidade se deve à introdução de programas de rastreamento em massa, em combinação com as melhorias terapêuticas. No CM, a sobrevida em 5 e 10 anos, após o diagnóstico, é de 88% e 77%, respectivamente. Assim, parece lógico considerar fatores conhecidos por desempenhar papel importante na predição de 5 anos de sobrevida de pacientes e questionar a importância da sobrevida após 10 anos do diagnóstico, ou mais tempo (2). Além disso, nos últimos anos houve grandes avanços na definição do valor prognóstico de vários marcadores moleculares, daí a necessidade de incorporar esses dados ao nosso conhecimento atual. O CM é uma doença heterogênea. A apresentação clínica, o potencial biológico, a resposta ao tratamento e o prognóstico podem ser diferentes (3). A avaliação anatomopatológica do carcinoma primário de mama é um recurso útil, embora imperfeito, para a predição dos desfechos clínicos da doença e de sua resposta a intervenções terapêuticas. Os achados morfológicos e imuno-histoquímicos da patologia tradicional espelham a expressão de centenas de genes que podem ser avaliados em uma simples verificação histológica associada ao correspondente estudo imuno-histoquímico (4). Contudo, os fatores prognósticos anatomopatológicos tradicionalmente utilizados, como o diâmetro tumoral, o grau histológico e o número de metástases nos linfonodos regionais, associados mais recentemente à determinação imuno-histoquímica, têm se demonstrado insuficientes em alguns casos.

Há necessidade de critérios diagnósticos mais refinados, bem como parâmetros prognósticos precisos, para que se possa tratar o CM de maneira eficaz e estabelecer mais claramente a probabilidade de recorrência, sobretudo quando há controvérsia quanto à aplicação das diferentes modalidades de tratamento disponíveis (3).

Na busca de novas formas de classificação do CM, no final do século 20 e início do século 21, surgiram várias publicações abordando e correlacionando os aspectos genéticos dos tumores mamários com os clínicos e imuno-histoquímicos já estabelecidos, algumas delas trazendo importantes contribuições para o conhecimento científico sobre o assunto (5). O estudo da genética tumoral provou a necessidade real de reclassificação do CM, permitindo categorizar diferentes genótipos tumorais, com possibilidades concretas de evolução em direção à provável personalização das intervenções terapêuticas.

O estudo dos genes tumorais mostrou que é possível avançar sobre a atual classificação dos carcinomas mamários, permitindo separar tumores que até então eram idênticos do ponto de vista histopatológico, imuno-histoquímico e clínico. O maior desafio é estabelecer para cada um desses tumores perfis biológicos bem distintos, de onde poderão ser extraídas importantes deduções preditivas de sensibilidade tumoral às terapias disponíveis, bem como informações prognósticas (5).

A avaliação imuno-histoquímica do CM – através de um painel com receptor de estrogênio (RE), de progesterona (RP) e receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2) – tornou-se fundamental. Casos de CM que não expressam esses três marcadores são chamados carcinomas triplo-negativos (CMTN). O CMTN é de conhecido mau prognóstico, e as portadoras desse subtipo tumoral não se beneficiam de importantes modalidades terapêuticas como a terapia antiestrogênica e a anti-HER2 (6,7).

Os estudos de Perou *et al.*, do início dos anos 2000, foram fundamentais no contexto da genética do CM (8). Nesses trabalhos, surgiu uma nova classificação subdividindo o CM a partir da expressão de diferentes grupos de genes. Essa nova classificação redistribuiu os CMs em cinco subtipos, assim chamados: luminal A,

luminal B, *normal breast-like*, HER2 e *basal-like* (5). Dentre esses cinco principais grupos, o carcinoma mamário basal apresenta o pior prognóstico. O interesse por esse subtipo é ainda maior, pois, à semelhança do CMTN, a maioria dos carcinomas basais também não responde às terapias antiestrogênicas e anti- (5,9,10).

O tratamento de doentes com CMTN tem sido um desafio devido à heterogeneidade da doença e à ausência de alvos moleculares bem definidos. Os CMTNs constituem 10%-20% de todos os CMs, mais frequentemente em pacientes jovens e mulheres afro-descendentes (11). CMTNs são tumores geralmente maiores em tamanho, de alto grau histológico, costumam mostrar envolvimento de gânglios linfáticos no momento do diagnóstico e são biologicamente mais agressivos (12). Apesar de taxas mais altas de resposta clínica à quimioterapia neoadjuvante, as pacientes têm maior taxa de recidiva e pior prognóstico do que as com os outros subtipos de CM (12,13). Menos de 30% das mulheres com CMTN sobrevivem cinco anos, e quase todas morrem da doença apesar da quimioterapia neoadjuvante, que é a base do tratamento (13).

Estudos de identificação de marcadores moleculares para CMTN, tais como VEGF (14)(fator do crescimento do endotélio vascular), EGFR (15) (receptor do fator de crescimento epitelial), Src (16) e mTOR (17)(alvo molecular da rapamicina) têm sido importantes para a criação de novos ensaios clínicos com tratamentos direcionados. Até agora não foram estabelecidos regimes de tratamento-padrão para CMTN. Como resultado, a mortalidade é elevada. Portanto, novos indicadores de prognóstico e abordagens para tratamento de CMTN devem ser desenvolvidos.

Na busca de alvos terapêuticos, estudos clínicos recentes sugerem que antagonistas do receptor andrógeno (RA) melhoram o prognóstico de pacientes com tumores triplo-negativos e RA positivos (18). RAs pertencem à família de receptores esteroides e são expressos em cerca de 35%-75% de todos os CMs. RA tem sido implicado na patogênese do CM e na sua progressão (19,20). Estudos recentes *in vitro* mostraram que o androgênio exerce efeito proliferativo em linhagens celulares que expressam RA, porém não naquelas com RE ou RP positivas (20).



Experimentos de transfecção celular seguida da análise histológica das amostras sugerem que a presença de RA no tumor indica comportamento menos agressivo e prediz melhor sobrevida. Aproximadamente 1/3 dos carcinomas ductais RE negativos de alto grau e carcinomas triplo-negativos expressam RA (20). Apesar da alta prevalência de expressão de RA no tecido normal da mama e nos tumores primários, o significado clínico e o papel funcional de expressão do RA no CMTN não estão bem elucidados.

Recentes evidências demonstraram que as mulheres com altos níveis circulantes de androgênio têm um risco aumentado de CM (21). Além disso, estudos em CMTN sugerem RA como sendo um marcador de prognóstico no CM (22). Tais achados sugerem uma conexão entre andrógenos e CM, podendo o RA servir como um alvo terapêutico para CMTN quando expresso.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 ESTRATÉGIAS PARA LOCALIZAR E SELECIONAR AS INFORMAÇÕES

Esta revisão de literatura considera os carcinomas de mama triplo negativos (CMTN) um grupo heterogêneo de tumores, ainda sem alvo terapêutico eficaz identificado. Um dos alvos propostos na literatura é o receptor de andrógeno, já descrito e frequente em tumores da mama de outros subtipos moleculares. A estratégia de busca foi realizada por meio de pesquisa nas bases de dados Pubmed e SciELO, limitada a humanos e incluiu artigos científicos publicados no período de 1975 a 2014.

As palavras-chave utilizadas foram: breast cancer, immunohistochemistry, androgen receptor, triple-negative breast cancer. De acordo com associação entre carcinoma de mama triplo-negativo, receptor andrógeno ou associações de palavras-chave, os artigos foram obtidos. Assim, triple-negative breast cancer versus breast cancer resultou em 3389 artigos; triple-negative breast cancer versus androgen receptor em 81 artigos; androgen receptor versus breast cancer em 1514 artigos; androgen receptor versus target therapy breast cancer em 72 artigos.

Estudos observacionais, coortes, ensaios clínicos randomizados, revisões sistemáticas e análises uni e multivariadas subsidiaram esta revisão. O desfecho de interesse foi positividade para receptor de andrógeno em câncer de mama e suas relações com variáveis clínico-patológicas, sobrevida global e livre de doença e subtipos do CMTN. Pesquisas referenciadas pelos artigos selecionados também foram acrescentados. Artigos recuperados, pelos termos de busca associados, que não tinham relação com o assunto e não estavam incluídos no nível de evidência descrito anteriormente foram excluídos. Ao final, a revisão foi de 93 artigos.

### 2.2 EPIDEMIOLOGIA

O CM é um importante problema de saúde pública tanto no Brasil quanto no mundo, sendo o tumor de maior incidência nas mulheres atualmente. Segundo números da Organização Mundial da Saúde (OMS), no ano de 2010 foram estimados 1,38 milhão de casos novos de neoplasia de mama, o que representa 23% de todos os novos casos de cânceres entre mulheres no mundo.

Como podemos observar na tabela 1, o tumor mamário ocupa o primeiro lugar na lista de incidência em números absolutos por câncer entre mulheres no Brasil (23).

**Tabela 1 - Incidência estimada para todos os cânceres em mulheres, exceto pele não melanoma, no Brasil**

<b>Tipo de câncer</b>	<b>Incidência</b>	<b>Mortalidade/Incidência</b>
Mama	52.680	27,9%
Cérvice uterina	17.540	9,3%
Colorretal	15.960	8,4%
Tireoide	10.590	5,6%
Pulmão, traqueia e brônquio	10.110	5,3%
Estômago	7.420	3,9%
Ovário	6.190	3,3%
Útero	4.520	2,4%
Linfoma não Hodking	4.450	2,4%
Sistema nervoso central	4.450	2,4%

Fonte: GLOBOCAN, 2012 (23)

O carcinoma mamário apresenta um padrão discrepante de incidência e mortalidade entre as diferentes regiões do mundo, sendo mais frequente em países desenvolvidos. As regiões em ascensão econômica apresentam taxas de incidência e mortalidade por CM em franca elevação nas últimas décadas. Esse fato sugere que, apesar do enriquecimento das nações e da melhoria da qualidade de vida da população, responsáveis pelo aumento da incidência dessa enfermidade, ainda existe baixo investimento para a prevenção e o tratamento nesses locais, o que, possivelmente, explicaria essa grande taxa de mortalidade (3). O processo de urbanização e o estilo de vida da sociedade moderna, tais como sedentarismo, alta ingestão alcoólica e obesidade, são os maiores responsáveis pela alarmante incidência de neoplasia mamária entre os países com renda mais elevada (24).

Segundo as estatísticas do Instituto Nacional do Câncer (INCA) em 2012, foram estimados em 52.680 casos-ano e 12.852 mortes-ano, sendo 147 homens e 12.705 mulheres (25).

No Rio Grande do Sul, há uma elevada incidência de CM que pode estar relacionada à formação sociodemográfica dessa região (26). A previsão para 2014 é de 87,72 CMs para 100 mil mulheres (25).

O CM pode ser explicado por uma conjunção bastante complexa de fatores de risco, os quais incluem múltiplos componentes pessoais, reprodutivos e até mesmo ambientais (1). Embora 90% dos tumores da mama sejam causados por mutações somáticas adquiridas e não se relacionem à história familiar, a avaliação de risco individual inicia pelos fatores genéticos. Esses são primariamente identificados através da história prévia pessoal e familiar positiva para tumores de mama e/ou ovário. Alterações em inúmeros locais do genoma produzem um fenômeno complexo de suscetibilidade genética para essa doença. Nesse contexto, algumas síndromes oncogenéticas, como a síndrome de Li-Fraumeni e de Cowden, por exemplo, compreendem importantes fatores predisponentes para múltiplas neoplasias, inclusive de mama (27).

Dentre as síndromes familiares, a síndrome hereditária de câncer de mama e ovários é uma doença autossômica dominante responsável pela maioria dos tumores de mama de etiologia genética. Os genes supressores tumorais *breast cancer gene 1* (BRCA1) e *breast cancer gene 2* (BRCA2) estão ligados à gênese dessa enfermidade. Esses genes estão envolvidos no reparo cromossômico em resposta ao dano da dupla hélice de DNA. Mutações nesses genes podem também ocorrer na população geral na proporção de aproximadamente 1/800 pessoas (27).

Diversos fatores de risco reprodutivos estão relacionados ao CM. Os estudos indicam que menarca precoce e menopausa tardia estão relacionadas a maior incidência de CM. A principal hipótese é a de que em cada ciclo menstrual a mama seria induzida à proliferação. Dessa forma, um número maior de ciclos aumentaria a susceptibilidade às mutações no tecido mamário (21). A nuliparidade aumenta o risco para desenvolver essa doença, ao passo que número maior de gestações tem efeito protetor. Nessa mesma linha, a idade avançada da primeira gestação corresponde a um relevante componente de predisposição ao CM. Esse fato pode ser explicado pela alteração fundamental provocada pela gravidez na arquitetura e na biologia da glândula mamária (1).

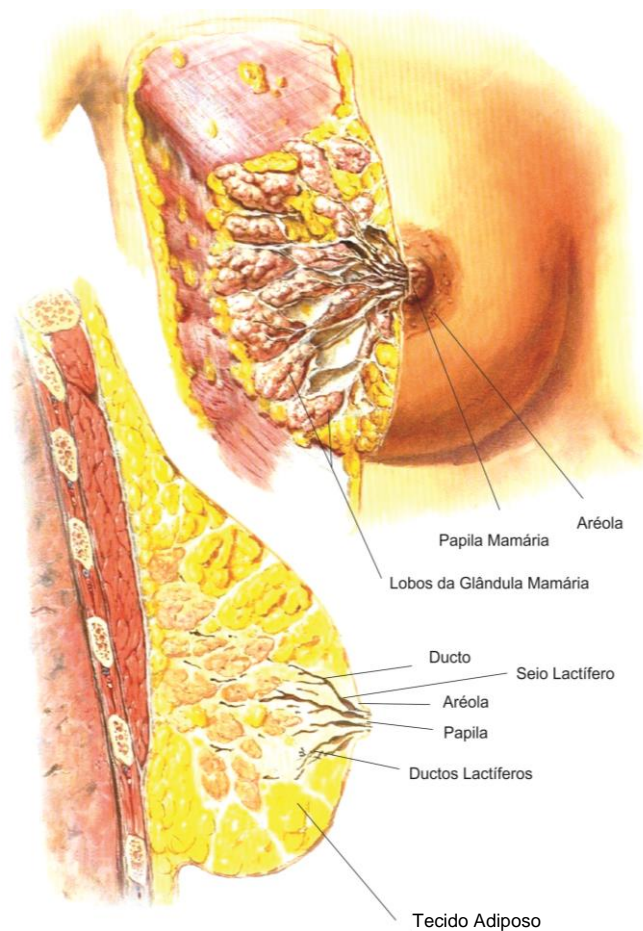
A amamentação representa também importante fator protetor contra o desenvolvimento da neoplasia mamária. Atualmente, credita-se esse efeito antineoplásico à diferenciação secretora do epitélio da mama induzida pela lactação e à interrupção dos ciclos menstruais provocada pelo aleitamento (1). Por fim, a reposição hormonal e o uso de anticoncepcionais orais também estão relacionados com maior incidência desse câncer nas mulheres (1).

O Consenso para Controle do Câncer de Mama do INCA considera como principais estratégias de rastreamento um exame radiográfico das mamas pelo menos a cada dois anos para mulheres de 50 a 69 anos e o exame clínico anual mamário para a população feminina de 40 a 49 anos. No caso especial de mulheres pertencentes a grupos populacionais com risco elevado, recomendam-se o exame clínico de mama e a mamografia, anualmente, a partir de 35 anos. Essas mulheres são as com história familiar de CM em parentes de primeiro grau com menos de 50 anos, doença bilateral ou câncer de ovário, com qualquer caso de CM masculino na família bem como a população de mulheres com diagnóstico histopatológico de lesão mamária proliferativa com atipia ou neoplasia lobular *in situ* (25).

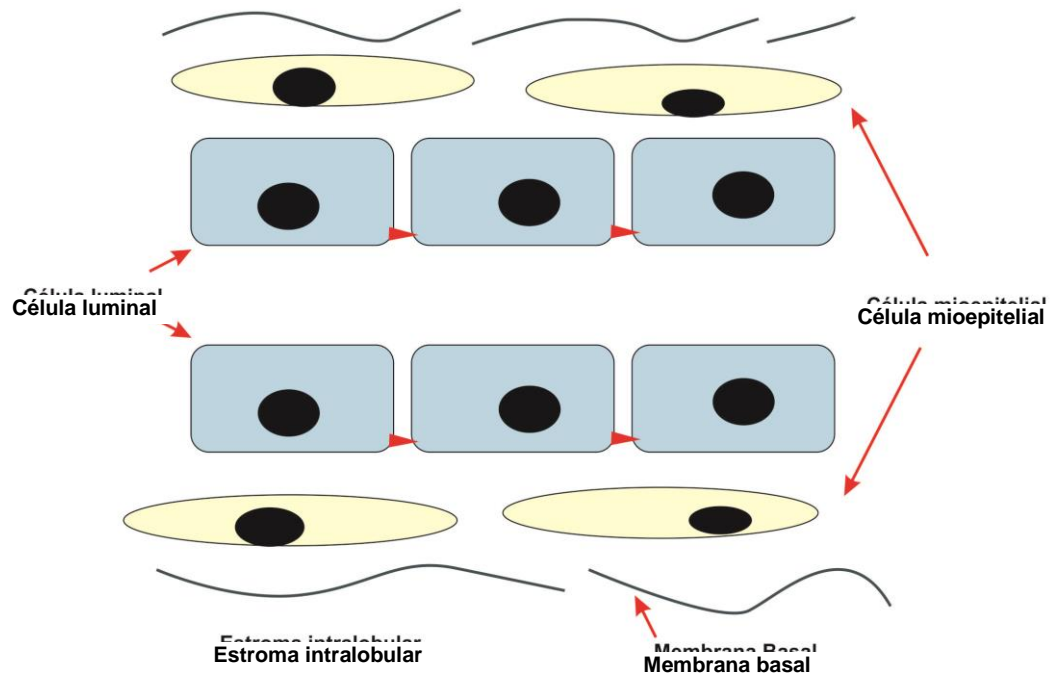
### 2.3 MORFOLOGIA MAMÁRIA

A neoplasia de mama é considerada atualmente uma doença heterogênea com múltiplas apresentações fenotípicas e biológicas. Para estudar a classificação histomorfológica dos tumores mamários, é importante lembrar a estrutura da mama.

Esse órgão glandular está localizado bilateralmente sobre os músculos peitorais maiores. Ele exerce função apócrina de produção láctea quando recebe estimulação neuroendócrina. A estrutura básica dessa glândula são as unidades terminais ductolobulares (figura 1). Os ductos mamários são compostos por três zonas distintas: epitélio luminal, mioepitélio e estroma intralobular (figura 2).



**Figura 1 - Estrutura morfológica da mama**  
Fonte: NETTER, 2008 (28)



**Figura 2 - Histologia esquemática do epitélio mamário**

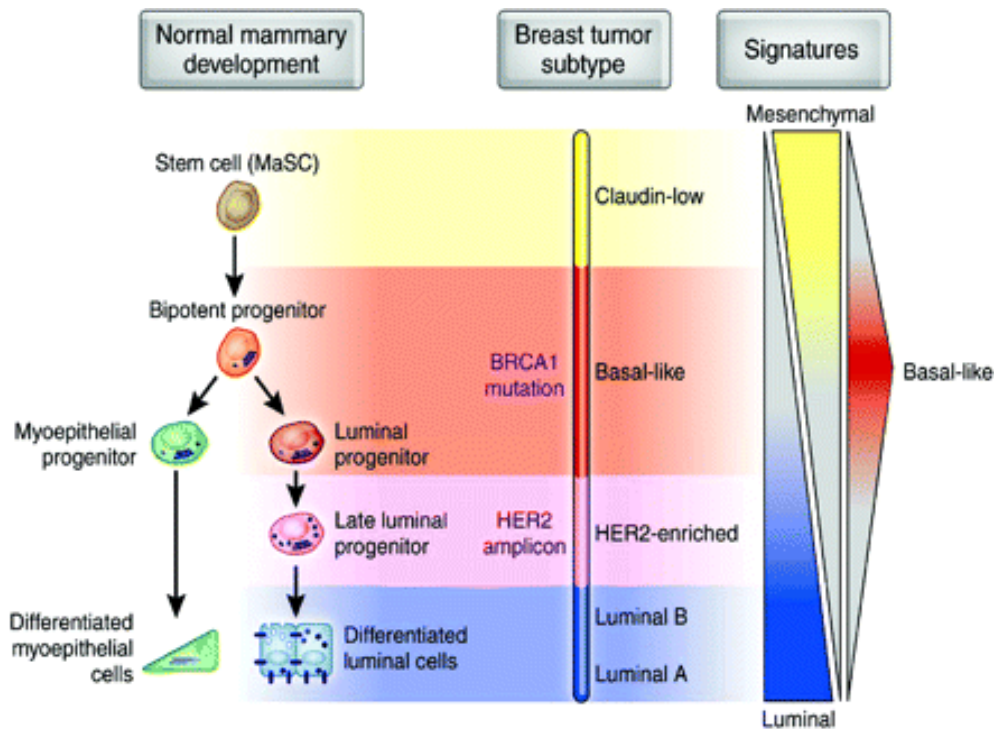
Fonte: FERNANDES, 2009 (29)

A maior parte das neoplasias da mama é derivada das unidades terminais ductolobulares. Carcinoma invasivo da mama é aquele em que as células tumorais rompem a membrana basal dos ductos e lóbulos e invadem os tecidos vizinhos, ou seja, o estroma mamário. Esse tumor é caracterizado como um tumor epitelial maligno com alta tendência à invasão de tecidos adjacentes e à disseminação de metástases à distância (30).

## 2.4 CARCINOGENESE MAMÁRIA

O conhecimento sobre a origem biológica das neoplasias e da sua heterogeneidade (fenotípica e genotípica) esteve represado por muitos anos, principalmente devido à deficiência tecnológica (31).

Os estudos de Stingl & Caldas (32) indicam que os tumores mamários derivam todos de um mesmo tipo de célula-tronco de mama. Esse fato é comparado aos tumores hematológicos, cuja classificação se baseia no reconhecimento das mutações pelas quais passaram as células cancerígenas para se diferenciarem da linhagem celular original. Dessa forma, alterações na expressão gênica dessas células mamárias precursoras causariam a evolução fenotípica desses tumores (figura 3).



**Figura 3 - Desenvolvimento molecular da célula de mama**

Fonte: PEROU, 2011 (33)

Esse mecanismo de expressão gênica ainda não está totalmente elucidado. Sabe-se que as células-tronco tumorais da mama expressam as proteínas CD44 e ALDH1 (aldeído desidrogenase 1) em alta quantidade e subexpressam as moléculas CD24 (34).



A suposta relação entre as células-tronco e o câncer não é nova. Embora tal conceito tenha sido desenvolvido há cerca de meio século, limitações técnico-científicas certamente impediram, durante muitos anos, o desenvolvimento de estudos que evidenciassem que os tumores malignos não se originam a partir de células somáticas maduras e diferenciadas, mas, sim, a partir de raras células-tronco localizadas estrategicamente em cada um dos tecidos maduros (35).

As células-tronco apresentam duas características fundamentais: a capacidade de autorreplicação e a capacidade de diferenciação. Segundo a teoria, as alterações genéticas que hoje identificamos nas células tumorais aconteceriam inicialmente nas células-tronco teciduais, ocasionando o descontrole de seus mecanismos de regulação e as transformando em células-tronco tumorais (36). Dentro desse conceito de carcinogênese, a capacidade de autorrenovação seria responsável pela manutenção tumoral e de diferenciação de uma neoplasia. Vistos sob essa teoria, os tumores malignos devem conter vários tipos de células, desde células-tronco tumorais, em pequena quantidade, até células cancerígenas em diversos graus de maturação, as quais comporiam a maior parte da massa celular de uma neoplasia (34).

Nos dias atuais, o tratamento do CM é realizado cada vez mais por meio de terapias-alvo, portanto é fundamental a identificação do perfil genético da amostra individualizada de cada paciente. Nesse sentido, têm sido utilizadas as técnicas moleculares com *Mamaprint*<sup>®</sup> (Agendia, Amsterdam, Holanda) e *OncotypeDX*<sup>®</sup> (Genomic Health Inc, Redwood City, Estados Unidos) para prever respostas terapêuticas e definir risco de recorrência tumoral antes de iniciar as medidas quimioterápicas (33).

## 2.5 CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DE TUMORES DA MAMA

Em 2012, a OMS lançou a 4ª edição da Classificação Histológica de Tumores da Mama (30). As tabelas 2 e 3 apresentam um quadro resumo desse sistema de classificação (37).

**Tabela 2 - Classificação histológica de tumores de mama segundo a 4ª edição da OMS (2012)**

Carcinoma microinvasivo
Carcinoma mamário invasivo
Carcinoma ductal invasivo, SOE
Carcinoma tipo misto
Carcinoma pleomórfico
Carcinoma com células gigantes tipo osteoclasto
Carcinoma com elementos coriocarcinomatosos
Carcinoma com elementos melanóticos
Carcinoma lobular invasivo
Carcinoma lobular clássico
Carcinoma lobular sólido
Carcinoma lobular alveolar
Carcinoma lobular pleomórfico
Carcinoma túbulo-lobular
Carcinoma lobular misto
Carcinoma tubular
Carcinoma cribriforme invasivo
Carcinoma com elementos medulares
Carcinoma medular
Carcinoma medular atípico
Carcinoma invasivo SOE com elementos medulares
Carcinoma mucinoso
Carcinoma com diferenciação em células em anel de sinete
Carcinoma metaplásico sem tipo especial
Carcinoma adenoescamoso de baixo grau
Carcinoma metaplásico fibromatose-símile
Carcinoma de células escamosas
Carcinoma de células fusiformes
Carcinoma metaplásico com diferenciação mesenquimal
Diferenciação condroide
Diferenciação óssea
Diferenciação em outros tipos mesenquimais
Carcinoma metaplásico misto
Carcinoma mioepitelial

Fonte: GOBBI, 2012 (37)

**Tabela 3 - Tipos tumorais epiteliais raros segundo a 4ª edição da classificação de tumores da mama da OMS (2012)**

Carcinoma com elementos neuroendócrinos
Tumor neuroendócrino bem diferenciado
Carcinoma neuroendócrino pouco diferenciado (carcinoma de pequenas células)
Carcinoma com diferenciação neuroendócrina
Carcinoma secretor
Carcinoma papilar invasivo
Carcinoma de células acinares
Carcinoma mucoepidermoide
Carcinoma oncocítico
Carcinoma rico em lípidos
Carcinoma de células claras rico em glicogênio
Carcinoma sebáceo
Tumores tipo glândula salivar/anexos cutâneos
Cilindroma
Hidroadenoma de células claras

Fonte: GOBBI, 2012 (37)

Os tumores são graduados histologicamente de acordo com a similaridade microscópica das células malignas com o tecido mamário normal. O sistema de graduação subdivide os tumores em bem (grau 1), moderadamente (grau 2) e pouco diferenciados (grau 3), refletindo que a perda de diferenciação está relacionada a pior prognóstico.

O sistema de graduação de Nottingham, desenvolvido há mais de 20 anos e utilizado para a classificação do CM, leva em conta a formação tubular, o pleomorfismo nuclear e a velocidade de proliferação das células malignas (38). Um escore parcial para cada um dos 3 critérios é conferido e os valores obtidos são adicionados para formar um escore final que corresponde ao grau (tabela 4).

**Tabela 4 - Sistema de graduação de Nottingham**

<b>Pleomorfismo nuclear</b>	<b>Índice mitótico*</b>	<b>Formação tubular</b>
Células pequenas, uniformes e regulares	0-9 Mitoses / 10 CGA	Maioria do tumor (> 75%)
Escore 1	Escore 1	Escore 1
Moderado tamanho nuclear e variações nucleares	10-19 Mitoses / 10 CGA	Moderada quantidade (10%-75%)
Escore 2	Escore 2	Escore 2
Marcada variação nuclear	20 ou > Mitoses / 10 CGA	Pouca ou nenhuma (< 10%)
Escore 3	Escore 3	Escore 3

\*O número de mitoses varia segundo a dimensão do campo microscópico.

Fonte: TODD *et al.*, 1987 (38)

## 2.6 AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DOS CARCINOMAS DE MAMA

Os marcadores tumorais (ou marcadores biológicos) são substâncias presentes no tumor, produzidos por ele ou secundariamente pelo paciente, em resposta ao tumor.

A utilização dos marcadores tumorais na avaliação do prognóstico do CM tem crescido muito nos últimos anos. Muitos deles foram inicialmente identificados através de estudos bioquímicos ou moleculares e podem agora ser localizados em cortes de tecido utilizando material parafinado através da imuno-histoquímica. Os marcadores incluem variedades de proteínas que estão associadas à oncogênese e medidores da atividade proliferativa do tumor no CM (39). A avaliação imuno-histoquímica do CM é estabelecida através de um painel com RE, RP e HER2 e Ki67.

A imuno-histoquímica introduzida nas décadas de 70 e 80 ainda trata a maioria dos tumores com excelência na rotina oncológica. Mas observou-se que

casos com mesmo diagnóstico e estadiamento histológico apresentavam, muitas vezes, desfechos clínicos marcadamente diferentes (6).

## 2.7 CLASSIFICAÇÕES DOS SUBTIPOS MOLECULARES DE CÂNCER DE MAMA

Foi com o desenvolvimento de novas técnicas de análise molecular, a partir da década de 90, que se iniciou um processo fundamental para desvendar as diferenças genéticas existentes entre os diversos tumores originários do tecido mamário. A introdução das técnicas de mapeamento da expressão genética dos tumores pela técnica de microarranjo de DNA possibilitaram a detecção simultânea de milhares de genes com o intuito de criar uma matriz molecular dos CM (8).

A caracterização do perfil desses carcinomas, por conseguinte, tem avançado significativamente nos últimos anos. A separação prognóstica atual dos tumores mamários leva em conta a organização clássica dos grupos histológicos e os subtipos moleculares, descritos inicialmente pelo grupo de Perou há 14 anos (8).

Os estudos utilizando análise tumoral histogenética por múltiplos genes (DNA *microarray*) têm permitido a identificação e a classificação dos carcinomas mamários de uma forma diferente da clássica, que é a positividade e a percentagem de RE, RP, HER2, P53 e Ki67 (5). Essa técnica revela, em parte, por que pacientes com tumores de mesmas características patológicas (tamanho, tipo, grau e estágio) podem mostrar evoluções clínicas diferentes. Os estudos de DNA *microarray* têm demonstrado que a heterogeneidade clínica e biológica do CM pode ser explicada por diferenças na composição genética dessas neoplasias, mesmo que pareçam muito semelhantes à luz dos clássicos métodos de diagnóstico e estadiamento.

Por meio da análise tumoral pela técnica molecular, é possível identificar diferentes carcinomas de mama dentro de um mesmo “tipo histológico de câncer” e delinear uma nova classificação baseada em grupos de genes expressos à semelhança do tecido mamário normal. Os primeiros estudos que utilizaram DNA *microarray* demonstraram que é possível separar carcinomas mamários em pelo menos cinco subgrupos, de acordo com a expressão de diversos genes

relacionados aos receptores hormonais (estrógeno e progesterona), ao crescimento celular (HER2 e HER1/EGFR), ao ciclo celular e à “origem no tecido mamário” (9,40). Partindo desses elementos, o grupo de Perou formulou uma nova classificação “molecular” para os carcinomas de mama em cinco subgrupos principais: luminal A, luminal B, *normal breast-like*, HER2 e *basal-like*, permanecendo ainda um grupo menor, de tumores não classificáveis pelos genes testados. Dentre os cinco principais grupos genéticos, o carcinoma mamário subtipo basal apresentou um dos piores prognósticos e representou 15% dos carcinomas mamários estudados (9). Deve-se ressaltar que as publicações recentes com DNA *microarray*, no início dos anos 2000, não foram as primeiras a tentar entender o significado dos “tumores basais de mama”, pois alguns anos antes, por técnica imuno-histoquímica, já havia trabalhos nesse contexto (8).

É importante compreender que essa heterogeneidade celular e gênica do CM se relaciona ao grande número de genes envolvidos no controle do crescimento, no metabolismo, na diferenciação e na morte celular. Os estudos de Stingl & Calda, sugerem que a expressão molecular de cada tipo tumoral propicia variações fundamentais de resposta aos quimioterápicos existentes (32). Os subtipos luminais são assim chamados por expressarem genes presentes no epitélio luminal mamário normal. Esses tumores representam a maioria dos CMs – quase 60% de todos os carcinomas invasivos mamários.

O grupo dos luminais A representa aproximadamente 40% dos CMs. Tais tumores expressam tipicamente altos níveis de receptores hormonais para RE e/ou RP, HER2-negativo e as citoqueratinas 8 e 18, estas últimas características das células normais do epitélio luminal mamário. Os tumores classificados como luminal A apresentam maior sobrevida quando comparados a outros CMs. Pode-se apontar como um dos motivos de melhor prognóstico desse subgrupo a capacidade de o tamoxifeno (droga antiestrogênio) agir especificamente nas células tumorais ricas em RE.

O segundo subtipo, o luminal B, representa aproximadamente 20% dos CMs e inclui 2 subtipos: HER2 positivo e HER2 negativo. Os luminais B HER2 positivos expressam RE, superexpressam HER2 e são classificados como luminais B, independentemente do Ki67 ou RP. Os luminais B HER2 negativos são RE positivos, HER2 negativos e apresentam pelo menos umas das seguintes características: alto Ki67 (> 14%), RP positivo<sup>(44)</sup>.

Um terceiro subtipo são os chamados HER2 superexpressos e representam até 15% de todos os tumores da mama. Sua composição é bastante peculiar. Esses tumores apresentam superexpressão do proto-oncogene do receptor-2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2) e são negativos para os receptores hormonais (9). O prognóstico desses tumores se alterou substancialmente há aproximadamente duas décadas. No início da década de 1990 foi desenvolvido um anticorpo monoclonal anti-HER2-humanizado, chamado trastuzumab (Herceptin<sup>®</sup>), o qual se liga com grande afinidade ao domínio extracelular do HER2. Essa medicação inibe a transmissão de sinais de estimulação ao crescimento das células tumorais (9).

O outro subtipo molecular chama-se *basal-like*. Análises preliminares indicam que essas neoplasias representam de 15% a 20% dos carcinomas mamários. Sabe-se que, em geral, esse tipo tumoral não expressa citoqueratinas do epitélio luminal, receptores hormonais, e tampouco expressa HER2. Seu padrão de expressão molecular é positividade ao receptor EGFR e/ou às citoqueratinas basais (CK 5/6, CK14, CK17)(15). Ainda que sejam entidades distintas, não estão plenamente elucidadas as diferenças entre esses tumores e os chamados triplo-negativos, ou seja, aqueles que não expressam RE, RP e HER2 (41).

O chamado grupo normal *breast-like* não é ainda considerado um subtipo, visto que não há uniformidade no padrão de expressão desses tumores. Estudos questionam a existência dessa entidade, pois essas neoplasias podem, inclusive, representar amostras de tecidos mamários normais equivocadamente classificadas nos bancos tumorais. De qualquer maneira, é prudente aguardar os resultados das muitas pesquisas atuais a respeito do espectro gênico e do prognóstico desse grupo de tumores (40,42).

Os subgrupos moleculares dos carcinomas de mama foram descritos pelos autores citados na tabela 5 (9,15,40,43,45-46). Ainda permanecem muitas dúvidas quanto à classificação molecular desses tumores. Não existe uma uniformidade na interpretação dos autores a respeito dos resultados de muitos estudos.

**Tabela 5 - Subtipos moleculares de câncer de mama com seus respectivos fenótipos**

<b>Subtipos</b>	<b>Fenótipos</b>	<b>Autores</b>
<i>Basal-like</i> (15%-20%)	RE-/ RP-/ HER2- ou + / CK 5, 6, 14,17+/EGFR+	Perou, 2011(40) Carey, 2007(43) Nilsen, 2004 (15)
<i>HER2-overexpressed</i> (10%-15%)	RE-/ RP-/ HER2+	Perou, 2011(40) Brenton, 2005 (9)
Luminal B (20%)	RE+ e/ou RP+/ HER2- Ki67 > 14% RE+ HER2+	Perou, 2011(40) Sorlie, 2001 (46) Cheang, 2009 (45) Untch, 2013 (44)
Luminal A (40%)	RE+ e/ou RP+/ HER2- Ki67 < 14% CK 8 e 18	Perou, 2011(40) Sorlie, 2001(46) Cheang, 2009 (45)
<i>Normal-breast-like</i>	Sem identificação	Perou, 2011(40)

## 2.8 CARCINOMAS DE MAMA TRIPLO-NEGATIVOS E *BASAL-LIKE*

O termo CMTN é utilizado para identificar aqueles carcinomas mamários que se mostram ao exame imuno-histoquímico negativos para os receptores de estrogênio, progesterona e HER2 (7). Estudos específicos sobre o subtipo triplo-negativo demonstraram que esse é um grupo heterogêneo de tumores de mau prognóstico, com diferentes fatores de risco, apresentações clínicas, padrões histopatológicos, comportamentos clínicos e respostas à quimioterapia, quando comparados com os carcinomas mamários positivos para estrogênio e progesterona (7,47).

Estima-se que em torno de 10% a 17% das mulheres com CM apresentam tumores triplo-negativos. Esses valores variam dependendo dos critérios utilizados



para definir positividade dos receptores hormonais e do HER2 (7,13). Em sua grande maioria, os carcinomas triplo-negativos desenvolvem-se em pacientes mais jovens (abaixo dos 50 anos) e são mais prevalentes em mulheres afro-descendentes (11,48,49) e nas portadoras de mutações nos genes BRCA 1 e 2 (12). Um estudo de 2010 analisou uma população brasileira com CM, mostrando maior prevalência do fenótipo triplo-negativo em afro-descendentes, quando comparadas com mulheres brancas (49).

O pico de recidiva dos carcinomas CMTN parece ocorrer entre o primeiro e o terceiro ano após o diagnóstico, e boa parte dos pacientes morre após cinco anos do tratamento inicial, o que é acentuadamente diferente do comportamento clínico esperado para os casos de carcinomas estrógeno-positivos (13,17,50). Por outro lado, passados os primeiros cinco anos, o subtipo triplo-negativo parece ter menor chance de recidiva que os carcinomas estrógeno-positivos (13,51).

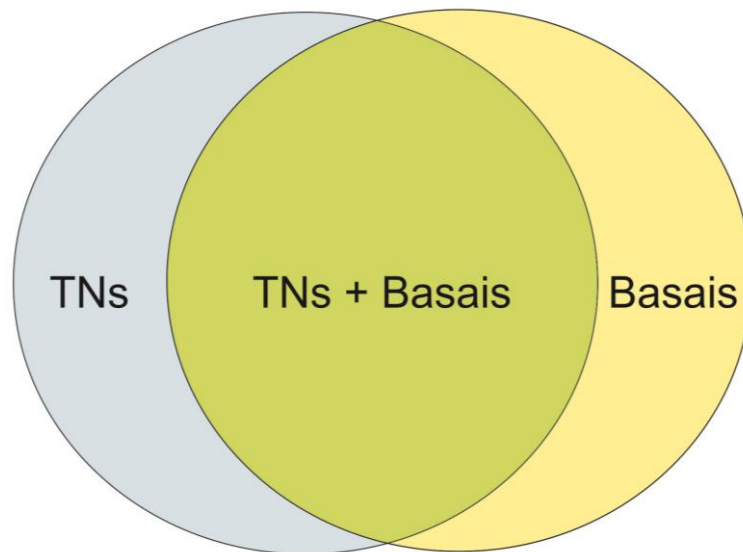
A maioria dos carcinomas triplo-negativos do ponto de vista histopatológico é de alto grau, grau 3 da classificação Nottingham (12,13,52). O índice proliferativo médio (Ki67) é de 35%, variando de 10% a 90%<sup>(28)</sup>. Pela classificação histológica, pode-se, todavia, perceber claramente a heterogeneidade deste grupo, pois carcinomas metaplásicos, mioepiteliais e adenoidecísticos também são preferentemente triplo-negativos (9).

De acordo com o site de pesquisa Web of Science, foram publicados 1.523 artigos a respeito desse grupo de cânceres de 1993 a janeiro de 2012 (53). O termo triplo-negativo pela primeira vez apareceu na literatura médica em um abstract encabeçado por Lysa Carey em 2004, o qual foi apresentado no 27th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium .

Essa pesquisa foi posteriormente publicada em 2007 e relatou a diferença de resposta aos quimioterápicos neoadjuvantes entre os subtipos CMTN e os HER2+. A maioria dos pacientes que expressavam HER2+ respondeu completamente à quimioterapia. Ainda assim, aqueles que eram CMTN e HER2-negativos tinham pior prognósticos (43).

Inicialmente o grupo de neoplasias chamado triplo-negativo foi reconhecido como sinônimo para fenótipo *basal-like*, grupo este descrito por Perou *et al.*, no ano de 2000 (8). Dent *et al.*, em 2007, concluíram que a maioria dos tumores triplo-negativos apresenta fenótipo *basal-like* e que a maioria dos tumores *basal-like* era classificada como triplo-negativa (13,52).

Os tumores *basal-like* representam 10% a 25% de todos os tumores. Contudo, cerca de 50% a 75% dos tumores de células basais apresentam expressão molecular triplo-negativa (15).



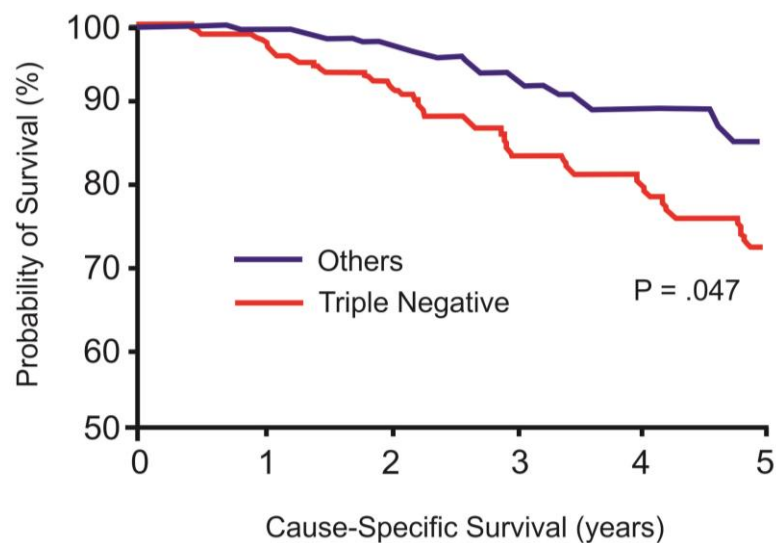
**Figura 4 - Diagrama esquemático dos tumores triplo-negativos versus *basal-like***

Admite-se que os tumores *basal-like* são derivados de um tipo de célula em estágio posterior de desenvolvimento do tecido mamário ao das células-tronco da mama (32). Sabe-se que essas neoplasias são marcadas pela expressão de vários genes expressos nas células mioepiteliais ou basais e são negativos para receptores: RE-/ RP-/ HER2 e positivos para citoqueratinas basais Ck 5/6, 14,17+/ EGFR+ e/ou c-kit (15). No entanto, análises do subgrupo *basal-like* revelaram que

em torno de 15% a 54% desses tumores expressam pelo menos um dos marcadores hormonais ou HER2 (42).

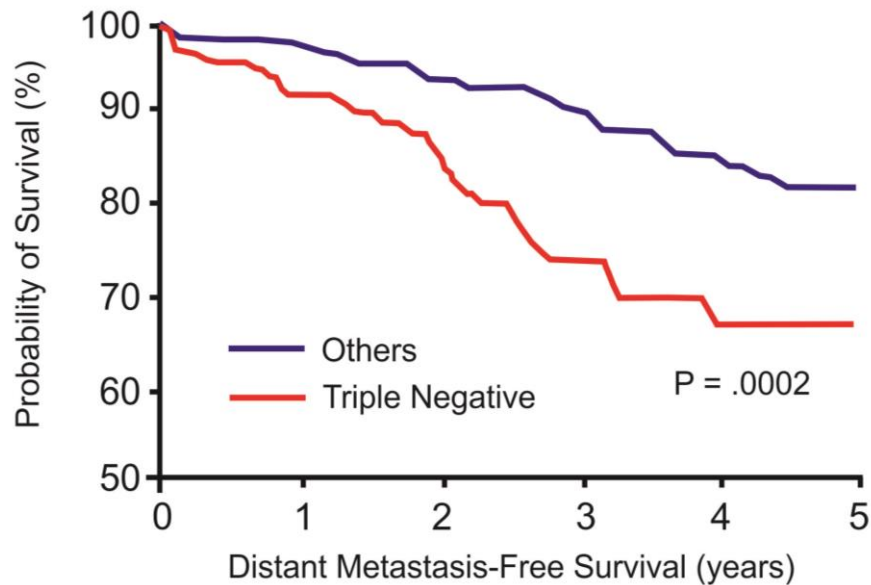
Estudos indicam que pacientes com tumores triplo-negativos do subtipo *basal-like* apresentam tempo de sobrevida livre de doença menor do que os pacientes que não expressam os marcadores do tipo basal (10). A maioria dos tumores triplo-negativos exibe histologia ductal invasiva, alto grau histológico, maior tamanho tumoral, alto índice de recidiva entre 1 e 3 anos e tendência de desenvolvimento de metástases viscerais (13).

Os estudos de Haffty *et al.*, em 2006, sugerem que, apesar do uso de quimioterapia neoadjuvante, o prognóstico dos tumores triplo-negativos é ruim. As figuras 5 e 6 mostram os piores resultados dos carcinomas triplo-negativos quando confrontados com os demais tumores da mama (12).



**Figura 5 - Mortalidade dos tumores triplo-negativos ao longo dos anos**

Fonte: HAFFTY *et al.*, 2006 (12)



**Figura 6 - Tempo livre de metástases dos tumores triplo-negativos ao longo dos anos**

Fonte: HAFFTY *et al.*, 2006 (12)

Os tumores triplo-negativos, por serem agressivos e de pior prognóstico, despertam especial interesse para o desenvolvimento de alternativas de tratamento menos invasivas e que aumentem a sobrevida das pacientes acometidas (12,17).

Os tumores triplo-negativos respondem à quimioterapia adjuvante em 69% e ao tamoxifeno em 7,3% (12).

O estudo de Carey *et al.*, em 2007, relatou uma sensibilidade importante desses tumores aos tratamentos neoadjuvantes – doxorrubicina e ciclofosfamida (43). A resposta à quimioterapia pré-operatória foi indicada como um forte fator preditivo de sobrevida nas pacientes com esses tumores (47).

Ainda não há uma completa diferenciação entre os carcinomas triplo-negativos e aqueles do subtipo *basal-like*. Aproximadamente 70% dos tumores *basal-like* têm expressão molecular semelhante à dos triplo-negativos. Esses dois grupos se sobrepõem em alguns pontos, tais como pior prognóstico e mau resultado às terapias-alvo (15).

Mais recentemente, Lehmann *et al.* descreveram seis subtipos de carcinomas triplo-negativos usando análise de expressão gênica: basal – 1, basal – 2, imunomodulador, *mesenquima-like*, células-tronco mesenquimais e um luminal androgênico (54). A importância translacional dessa subclassificação dos CMTNs foi reportada por Masuda *et al.*, que mostraram que a determinação do subtipo tumoral através da classificação de Lehmann pode servir como preditor independente de resposta patológica completa (PCR) em pacientes com CMTN (55).

Em resumo, as neoplasias triplo-negativas constituem um grupo de tumores marcadamente heterogêneo em sua classificação clínica e histológica. Ainda há muitas questões práticas a serem solucionadas, incluindo os critérios classificatórios desses tumores. Atualmente, é aceita a ideia de que os tumores triplo-negativos não representam um subtipo, e sim uma característica fenotípica (41).

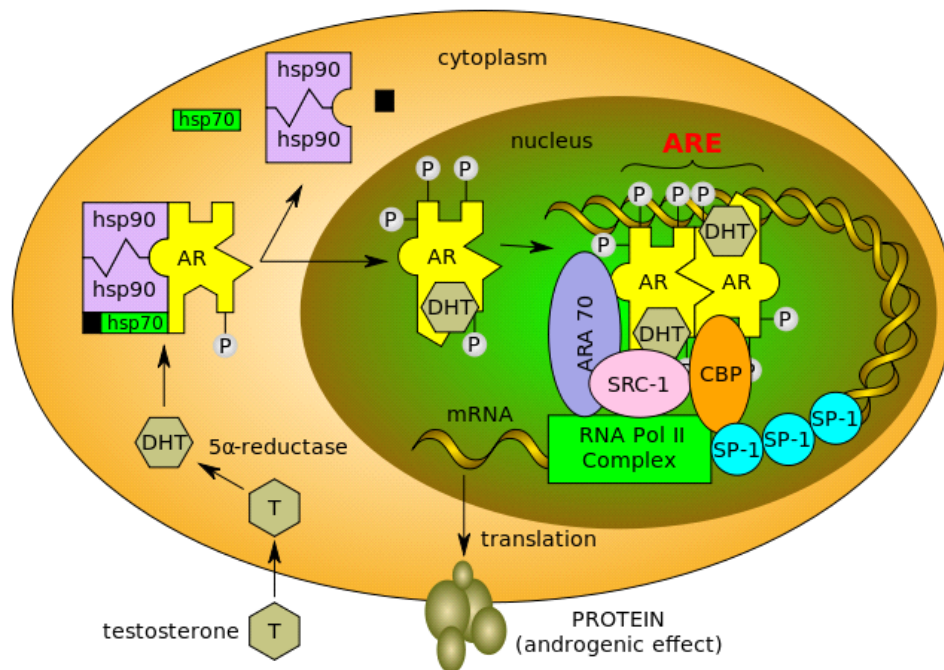
## 2.9 AÇÃO DOS ANDRÓGENOS E RECEPTORES ANDRÓGENOS NA MAMA

Agonistas de andrógenos como a testosterona e a deidroandrosterona (DHT) têm a função de ligar-se ao RA intracelular (56,57). O RA é localizado junto com receptores de estrogênio e progesterona nas células epiteliais mamárias, mas não é normalmente detectado no estroma mamário ou mioepitélio (58). A co-expressão do receptor de RE e RA nas células epiteliais mamárias sugere que os efeitos do estrógeno e andrógeno de proliferação epitelial mamária estão integrados.

O gene do RA está localizado no cromossomo X, não havendo alelo correspondente em Y, portanto ele funciona como gene de cópia única. Isto foi demonstrado pela completa perda do efeito de andrógenos em indivíduos XY que apresentam mutação inativadora de RA (59). Curiosamente, o produto do gene BRCA1 foi identificado como um coativador de RA (60). A proteína BRCA1 vincula-se ao RA e potencializa os efeitos mediados pelo RA, sugerindo que mutações em BRCA1 podem atenuar efeitos androgênicos (61).

Os sinais dos androgênios e estrogênios são transmitidos através dos receptores nucleares. Seus ligantes típicos são os hormônios lipofílicos esteroides, como a testosterona, progesterona e cortisol. O hormônio testosterona que passa através da membrana plasmática, por difusão passiva, alcança o receptor DHT e inicia a transcrição de certos genes e, portanto, a produção protéica (57)(figura 7).

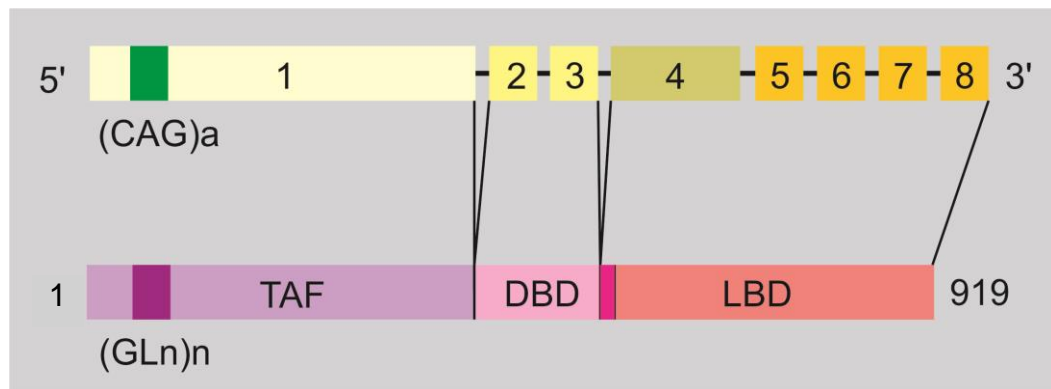
Há duas formas principais de receptores estrogênicos ( $ER\alpha$  e  $ER\beta$ ), transcritos por genes somáticos, e uma forma de receptor androgênico (AR) que é transcrito a partir de um único gene localizado no cromossomo X, na região Xq 11-12. Alguns estudos têm demonstrado que receptores do tipo  $ER\alpha$  e AR agem mais como potencializadores de longo alcance do que como promotores de transcrição gênica, podendo atuar na regulação e expressão de RNA não codificante e representando um meio importante através do qual esses receptores atuam na transcrição gênica durante o desenvolvimento normal e a progressão de doenças (59).



**Figura 7 - Andrógeno e receptor andrógeno**

Fonte: Meehan e Sadar, 2003 (62)

O gene do receptor de andrógeno está organizado em 8 éxons, separados por íntrons que inicia em 5' e termina em 3' (19). Sua região codificante apresenta, aproximadamente, 2.757 pares de bases, traduzindo uma proteína de 919 aminoácidos. A proteína AR apresenta três domínios funcionais: domínio de regulação transcricional (aminoterminal TAF), domínio de ligação ao DNA (DBD), e domínio de ligação ao esteroide (LBD). O domínio aminoterminal possui repetição dos aminoácidos glutamina, cujo número pode variar. O domínio de ligação do esteroide representa o local onde ocorre o maior número de mutações (cerca de 55% das descritas nesse gene). O local situado entre o domínio de ligação do DNA (DBD) e o domínio de ligação ao esteroide (LBD) representa uma região flexível da proteína, necessária para passagem do AR do citoplasma para núcleo (57) (figura 8).



**Figura 8 - Desenho esquemático do gene do receptor andrógeno (topo) e da proteína (abaixo).**

[O local de repetição trinucleotídeo polimórfica (CAG) é indicado em verde à esquerda. Transativação da função (TAF), os domínios DNA-*binding* (LBD) são rotulados <sup>(16)</sup>]

Fonte: DIMITRAKAKIS, 2009 (19)

O RA é da família dos receptores esteroides, que incluem também os receptores de estrogênio e progesterona. O RA tem um número de ligantes, incluindo os ligantes endógenos DHT (deidroandrosterona) e T (testosterona), bem como uma variedade de agonistas e antagonistas sintéticos (63).

Os estrogênios estimulam, enquanto os andrógenos inibem o desenvolvimento mamário, independentemente do sexo genético (19). Evidência clínica sugere que andrógenos normalmente inibem o crescimento da mama e de

proliferação epitelial mamária. Muitos tecidos femininos, incluindo as mamas, possuem receptores de androgênio funcionais. Embora grande parte seja transformada em estrogênios, os andrógenos são os principais hormônios sexuais circulantes em mulheres e podem atuar diretamente sobre receptores de androgênio.

Durante a fase folicular, os níveis de estradiol baixam, enquanto os níveis de testosterona se mantêm constantes, período no qual há a maior taxa de apoptose nas células mamárias. Na fase lútea, o nível sérico do estradiol permanece elevado, enquanto a testosterona retorna a níveis baixos. A proliferação das células epiteliais da mama é maior durante a fase lútea do ciclo menstrual.

Após a menopausa, os níveis de estradiol caem quase 10 vezes, enquanto os níveis de testosterona caem aproximadamente 1,5 vez. Na ausência de estimulação por estrogênio, o tecido mamário pós-menopáusico tende a reduzir lenta e progressivamente devido à atrofia do tecido glandular e fibrose do estroma pela falta de oposição ao androgênio circulante (64). Esse conceito é sustentado pelo fato de que uma redução acelerada do tecido mamário acontece quando doses farmacológicas de androgênio são administradas em mulheres que realizam troca de sexo (65). O tratamento convencional de estrogênio, aumenta a estimulação da mama e, possivelmente, o risco de câncer. A adição de testosterona ao regime de terapia hormonal normal pode diminuir o estrogênio e o risco de CM (19,21).

Embora a mama sofra influência dos hormônios circulantes, ela possui ação endócrina complexa, já que algumas células têm a capacidade de metabolizar os esteroides circulantes, transformando a testosterona em 17-beta-estradiol e DHT através das enzimas aromatase e 5-alfa-redutase, respectivamente. Portanto, a influência da testosterona circulante no potencial proliferativo das células mamárias é dependente, em parte, da expressão dessas enzimas no tecido mamário. A ação da aromatase no tecido mamário é particularmente importante em mulheres na pós-menopausa, sendo a principal fonte de estradiol. A atividade anormalmente elevada da aromatase pode contribuir para a carcinogênese mamária. Alguns modelos animais demonstraram que, após a remoção dos ovários para simulação de menopausa, a testosterona tende a ser transformada em estradiol na mama quando não há administração de estrogênio. Já na administração de estrogênio e



testosterona, a testosterona acaba sendo convertida em DHT e esta, por sua vez, tem efeito antagônico ao estrogênio na mama (66).

## 2.10 RECEPTOR ANDRÓGENO E CÂNCER DE MAMA

O RA é expresso em até 75% dos CMs, embora esse percentual tenha variado entre os estudos de 35% a 75%. Essas taxas de expressão são superiores à da expressão de RE ou RP em pacientes de CM, no entanto o papel do RA no CM não foi examinado em detalhes como foi o de RE e o de RP (67).

No início de 1970, foi relatada a importância das ações do andrógeno no CM em linhagens celulares (68). Número crescente de estudos tem examinado e indicado que as ações do andrógeno através do seu receptor expresso nas células de CM desempenham papel importante na biologia e no comportamento clínico. Portanto, o potencial da manipulação dos androgênicos através do RA em células de CM poderia desempenhar algum papel terapêutico em pacientes com CM que expressam RA (67,69).

Uma área de preocupação contínua é a noção de que a exposição de excesso de andrógenos pode aumentar o risco de CM em mulheres (70). O uso de andrógenos em mulheres aumenta o risco para CM, contra a evidência de que andrógenos protegem a glândula mamária da estimulação induzida por hormônio (70).

O tratamento de mulheres com suplementação de testosterona para remediar o desejo sexual hipoativo é uma área de grande interesse neste momento. Embora pareça evidente que o tratamento com testosterona aumenta a atividade sexual, a relação risco-benefício desse tratamento ainda não está clara. Receptores andrógenos estão incluídos em tecidos mamários tanto em homens como em mulheres. Assim, o tratamento de testosterona para melhorar a função sexual pode ter efeitos colaterais em diversos tecidos (21).

Dados experimentais sugerem que os esquemas de tratamento convencional com estrogênio, como contraceptivos orais (CO) e terapia hormonal, têm como consequência a proliferação epitelial mamária e, assim, potencialmente, risco de CM. Isto ocorre devido à supressão das gonadotrofinas pelo tratamento de

estrogênio exógeno resultando na esteroidogênese ovariana e reduzindo estrógeno e andrógeno. Além disso, estrógenos estimulam a produção hepática do hormônio sexual globulina (SHBG), que se liga à testosterona, reduzindo a biodisponibilidade de androgênio. Como resultado desse duplo efeito, os níveis de testosterona total estão reduzidos em mulheres que tomam contraceptivos orais ou suplementação de estrogênio na insuficiência ovariana (21).

## 2.11 PREVALÊNCIA DO RECEPTOR ANDRÓGENO NOS CARCINOMAS DE MAMA TRIPLO-NEGATIVOS

Nos últimos anos, vários alvos de interesse relativamente aos carcinomas mamários triplo-negativos foram estudados, incluindo o receptor de androgênio (RA) e a E-caderina (71,72).

Aproximadamente 10% a 15% dos CMTNs expressam RA (73). Outros autores identificaram tumores de fenótipo não basal RE- RA+ e os denominaram como subtipo molecular apócrino (74).

A frequência global de RA nas células de carcinoma varia consideravelmente entre os estudos, de 0% a 53% de todos os pacientes do CMTN, utilizando um ponto de corte de 10% para definir a positividade de RA (67,71,75). O critério para positividade de RA é variável e diversos autores usaram uma percentagem de positividade nuclear variando entre > 1% a 75% no núcleo das células (75–79)(tabela 6). Em outros estudos de CMTN, a expressão de RA parece ser mais baixa, em torno de 25% e 35% (80,81).

Potenciais fatores de confusão quanto às diferentes prevalências relatadas de RA no CMTN incluem: o subtipo, a progressão da doença, estudos de coorte com problemas metodológicos, a preparação dos tecidos, métodos de recuperação do antígeno, variações de anticorpos e diferentes tipos de coloração e critérios de positividade (67).

**Tabela 5 - A percentagem da positividade de receptor andrógeno encontrada por diferentes autores**

Autor	Referência	Ano	Tipo de Câncer de mama	Proporção com CMTN	%RA+CMTN (%total RA+)	Associação entre a expressão do RA e os resultados clínicos em câncer CMTN	País	Anticorpo anti AR clone	Diluição	Recuperação antigênica
Tsutsumi	76	2012	CDIS/CDI	51/325 (15%)	41% (85%)	_b*	Japão	Dako	1 100	HEAT EDTA
Qi	77	2012	Carcinoma invasivo	158/980 (16%)	53% (77%)	_b*	China	Maixin AR441	Produto P/uso	EDTA-Water Bath
Loibil	75	2011	Não especificado (lobular e ductal)	111/673 (17%)	21% (53.2%)	Melhor sobrevida	Alemanha	Biogenix Clone 139.4.1	1 150	
Choi	78	2011	ILC	8/117 (16%)	12% (49%)	_b*	Coreia	Dako AR 441	1 100	
Park	79	2011	Carcinoma invasivo	156/931 (16%)	13% (58%)	Sem efeito significativo	Coreia	Dako AR 441		Microwave citrate

\*\_b: Não foi avaliado

Fonte: McNAMARA, 2013 (67)

## 2.12 EXPRESSÃO DO RECEPTOR ANDRÓGENO EM DIFERENTES TIPOS HISTOLÓGICOS DO CARCINOMA DE MAMA TRIPLO-NEGATIVO

Entre os casos de CMTN, o carcinoma ductal invasivo tipo não especial da OMS tem sido o tipo histológico mais intensamente investigado, variando a positividade de RA de 1% a 39% (67).

No entanto, a prevalência de expressão de RA no carcinoma lobular invasivo triplo-negativo tem sido escassamente investigada. Uma explicação é que o fenótipo do CMTN no carcinoma lobular invasivo ocorre menos frequentemente do que no carcinoma ductal, e são relativamente baixas as taxas de positividade de RA (12,5%). Os carcinomas lobulares triplo-negativos apresentam características clinicopatológicas distintas dos ductais triplo-negativos, tais como maior frequência em mulheres idosas, maior tamanho e grau histológico, histologia pleomórfica e expressão aumentada de vimentina, CK5, p16, p53 e c-kit (82).

## 2.13 LINHAGENS DE CÉLULAS DE CARCINOMA DE MAMA TRIPLO-NEGATIVAS E A EXPRESSÃO DO RECEPTOR ANDRÓGENO

Desde a publicação de Perou *et al.* sobre os perfis moleculares do carcinoma de mama em 2000 (8), várias tentativas foram feitas para caracterizar linhagens de células de CM usando os mesmos perfis moleculares (83,84). Até o momento, há um número limitado de estudos verificando a expressão de RA em linhagens de células triplo-negativas. Os modelos de linhagens celulares positivas para RA estão resumidos na tabela 7.

**Tabela 6 - Resumo dos modelos de linhagens celulares positivas para receptor andrógên**

Linha celular	Classificação da expressão gênica		Tumor de origem	RA+	Avaliado
	Subtipo CMTN	Subtipo molecular			
MCF10A			Doença fibrocística	+	ATTC
HCC1937	Basal(BL1)	HER2	Carcinoma ductal	+	ATTC
HCC1957			Carcinoma ductal	+	ATTC
HCC2185	LAR*(LAR)	Luminal A	Carcinoma lobular metastático	+	ATTC
MDAMB453	LAR*(LAR)	Luminal A	Carcinoma metastático adenocarcinoma	+	ATTC
MFM223	LAR*(LAR)	Luminal A/B	Adenocarcinoma	+	DSMZ
SUM185PE	LAR*(LAR)	Luminal A	Carcinoma ductal	+	Asterand
CAL148	LAR*(LAR)	Luminal A	Adenocarcinoma	+	DSMZ
HCC38	Basal(BL1)	Não classificado	Carcinoma ductal	+fraco	ATTC
BT20	Não classificado	HER2	Carcinoma ductal invasivo	-	ATTC

\*LAR: luminal androgênico

Fonte: LEHMANN *et al.*, 2011 (54)

Os principais achados sobre o papel do receptor andrógênico no CMTN vieram dos estudos de linhagens celulares publicados pelo grupo de Lehmann *et al.* (54). Os autores demonstraram que, além da linhagem de células MDA-MB-453, quatro outras linhagens celulares (SUM185PE, HCC2185, MFM223 e CAL148) tinham um perfil de gene correspondente ao grupo luminal androgênico (LAR) nos tecidos de CM. Quantificação de RA nessas linhas de células confirmou que todas expressaram relativamente altos níveis de mRNA e altos níveis de expressão de proteínas de RA, semelhantes aos das células de MD-MBA-453 (54). As células MDA-MB-453 são uma das linhagens mais extensivamente usadas no estudo *in vitro* do RA. No entanto, apesar da ampla utilização da linhagem celular MDA-MB-453, há características que não são necessariamente paralelas às das células de pacientes com CMTN.

Outro estudo utilizando a linhagem celular MDA-MB-453 demonstrou que os andrógenos modulam processos biológicos importantes, incluindo proliferação

celular (83). Linhagem celular MDA-MB-453 é receptor andrógênio positiva e triplo-negativa em relação ao receptor de estrogênio  $\alpha$ , progesterona e HER2. Outros estudos confirmaram os altos níveis de expressão de RA nessa linhagem de células MDA-MB-453 (83). Em outras linhagens de células triplo-negativas, como HCC1137, HC1954, BT483, MB-231, BT-549, MCF-10A e, em menor medida, HCC38, os resultados da expressão foram inconclusivos (54).

Estudos posteriores nas linhagens de células MFM223 e SUM185PE também demonstraram o papel dos andrógenos na proliferação e formação de tumores (54). Esses resultados todos sugerem que andrógenos podem estimular a proliferação de pelo menos duas linhas diferente de células CMTN.

*Doane et al.*, em 2006, fizeram análise genômica de 99 amostras teciduais de CM e 8 linhagens celulares com o objetivo de estudar subtipos moleculares e possíveis novos alvos terapêuticos. Os autores avaliaram um novo grupo de tumores RE(-)/RP(-) com expressão paradoxal de genes diretamente relacionados ao RE, incluindo SPDEF, FOXA1, XBP1, CYB5, TFF3, NAT1, APOD, ALCAM e RA ( $p < 0,001$ ). Essa assinatura genética foi identificada na linhagem celular MDA-MB-453 que demonstrou atividade proliferativa frente a andrógeno, porém independente do RE (80).

Embora muitas linhagens de células expressando RA estejam associadas a uma resposta proliferativa após estimulação androgênica, a administração de androgênio ou acetato de medroxiprogesterona em linhas de células de MFM223 resultou em proliferação celular reduzida (85).

Além dos estudos utilizando linhagens celulares RA-positivas, transfecção de genes de RA em linhas de células de carcinoma de mama RE/RP negativas foi utilizada para avaliar o papel do RA no CMTN (80). Os resultados sugerem inibição do crescimento celular em resposta à sinalização do RA, mas, como em outros modelos celulares, existem limitações importantes na inferência da sua relevância clínica ou biológica em modelos de células transfectadas.

## 2.14 AÇÕES DICOTÔMICAS DOS ANDRÓGENOS EM CARCINOMAS DE MAMA TRIPLO-NEGATIVOS

A descoberta da classificação genômica do CM (8) despertou o interesse pelo receptor andrógeno no CMTN (7). Esse subgrupo foi definido pela presença de RA e negatividade para RE e RP e foi posteriormente denominado subtipo apócrino molecular (76). A relevância biológica do RA nesse grupo permanece controversa até hoje.

Numerosas hipóteses têm sido sugeridas para as funções do receptor andrógeno, incluindo função supressora ou como um incentivador de crescimento tumoral (76,83). Diferenciação apócrina (metaplasia) é frequentemente observada no epitélio mamário, no entanto, carcinomas apócrinos são raros, constituindo menos de 5% de todos os carcinomas da mama. Lesões apócrinas da mama são caracterizadas pela superexpressão do receptor de androgênio AR, juntamente com a perda de ER- $\alpha$  e PR (76).

A identificação do subtipo apócrino do CM e o reconhecimento de que AR é o receptor esteroide dominante nesse subtipo (AR+ER $\alpha$ -) fez crescer o interesse sobre o papel desse receptor no CM e seu potencial manejo terapêutico. Alguns estudos demonstraram a similaridade entre CM apócrino e câncer de próstata, principalmente pela permutação funcional das vias de sinalização de AR e HER2 no CM e das células androgenodependentes LNCaP no câncer de próstata (66). Esses estudos demonstraram que o RA pode desempenhar um papel oncogênico potencial em carcinomas de mama estrogênio-negativos e a necessidade da molécula FOXA-1A como cofator para ligação do RA ao DNA (66).

### 2.14.1 Ausência de efeito protetor

Vários estudos clínicos analisaram os efeitos da expressão de RA nas células de CMTN, mas não conseguiram detectar quaisquer correlações significativas.

Peters *et al.*, em 2009, examinaram uma coorte de 58 carcinomas de mama negativos para RE utilizando um *microarray* tecidual (84). Nesse trabalho, o RA não teve significado na sobrevida dos pacientes examinados. Esse achado contrastou com os casos RE positivos, onde a presença de receptor de estrogênio resultou em vantagem de sobrevida (84).

Park *et al.*, em 2011, avaliaram o efeito da expressão de RA em uma série de casos de CM invasivo (n = 931) entre os quais havia um subgrupo de 176 CMTN. Ao examinarem esse subgrupo, os autores não encontraram nenhum efeito significativo do RA em resultados clínicos (79).

#### **2.14.2. Efeito protetor**

Agoff *et al.*, em 2003, realizaram um estudo para analisar a expressão de AR em um subgrupo de pacientes com tumores predominantemente RE negativos e correlacionar com dados clínico-patológicos (81). Foram selecionados, entre junho de 1990 e julho de 2002, 88 casos aleatoriamente, sendo 69 ER negativos e 19 ER positivos, com painel prognóstico semelhante (ER, PR, HER2, Ki67, e p53), a partir dos arquivos do Departamento de Patologia da Universidade do Washington Medical Center, Seattle. Os pacientes tinham média de 54,9 anos (26-91 anos), 31 dos 88 (35%) tinham menos de 50 anos e 37 (42%) estavam na pré-menopausa. Dos casos, 84 foram biópsias de carcinomas primários de mama e 4 eram amostras de biópsia de doença metastática. A maioria dos tumores era carcinoma ductal (n = 75), com alguns lobulares (n = 7) e alguns carcinomas lobulares pleomorfos (n = 4). A maioria dos tumores (58/86 – 67%) era de alto grau e pouco mais da metade dos tumores primários apresentavam metástase linfonodal no momento do diagnóstico (43/76 – 57%). Nos tumores RE negativos, a expressão de AR foi associada com aumento da idade (p = 0,02), estado pós-menopausa (p < 0,001), menor grau tumoral (p = 0,03), tumor de menor tamanho (p = 0,03) e superexpressão de HER2 (p = 0,003). A falta de expressão AR mostrou uma tendência de associação com a alta expressão de Ki67 e com gravidez (apenas 1 de 6 mulheres grávidas tinha tumor RA positivo), mas essas tendências não foram estatisticamente significativas



( $p = 0,06$  e  $p = 0,10$ , respectivamente). Nos tumores RE positivos, a expressão de AR foi associada com positividade RP ( $p = 0,03$ ) e mostrou uma tendência de associação com a falta de superexpressão de HER2, embora não tenha sido estatisticamente significativa ( $p = 0,06$ ). A presença do receptor AR mostrou-se fortemente correlacionada com positividade para RE: 17 de 19 (89%) cânceres de mama ER positivos foram positivos para AR, em comparação com apenas 34 de 69 (49%) tumores de mama ER negativos ( $p = 0,002$ ).

O seguimento foi completo para 66 mulheres (75%), incluindo 57 de 69 (83%) com tumores ER negativos. O acompanhamento após o tratamento variou de 4 a 120 meses, com média de 25 meses. Durante esse período, 21 de 25 (84%) pacientes com tumores ER negativos e AR positivos permaneceram livres da doença, enquanto que apenas 17 de 32 (53%) mulheres com ER negativos e AR negativos foram livres de doença. Das 57 mulheres com tumores ER negativos, 19 (33%) apresentaram recidiva da doença: 15 das 32 (47%) com tumores AR negativos, mas apenas 4 de 25 (16%) com tumores AR positivos. Nenhuma das mulheres com tumores ER negativos AR positivos morreram da doença, mas 4 com tumores ER negativos AR negativos morreram da doença. Os dados de acompanhamento de mulheres com tumores ER positivos eram muito escassos (9 de 19 pacientes) para afirmar conclusões. Na análise de regressão univariada de Cox para sobrevida livre de doença em pacientes com tumores ER negativos, as com tumores AR positivos tinham apenas 33% do risco de recorrência em comparação com as pacientes com tumores AR negativos ( $p = 0,049$ ; *ODDS ratio*, intervalo de confiança de 95%, 0,1-1,0).

Não está claro se essa diferença na sobrevida livre de doença é indicativa de uma natureza mais indolente dos tumores AR positivos ou se ela reflete a sensibilidade ao tratamento, mas nenhum desses pacientes recebeu terapia antiestrogênica ou antiandrogênica (81).

Luo *et al.*, em 2010 (86), em um estudo de caso - controle, avaliaram 137 pacientes com CMTN, submetidas à ressecção cirúrgica e que não realizaram quimioterapia nem radioterapia pré-operatória. Todas eram mulheres de 25 a 80 anos (média de 49). O objetivo do estudo foi investigar a expressão de RA no CMTN e verificar sua correlação com as características clínicas, patológicas e prognóstico.

A expressão de RA nos casos de CM foi avaliada através da porcentagem de células positivas ( $\leq 1\%$  obteve escore 0;  $> 1 - \leq 25\%$ , escore 1;  $> 25 - \leq 50\%$  escore 2;  $> 50 - \leq 75\%$  escore 3;  $> 75\%$ , escore 4) e intensidade da coloração (expressão fraca (+) com coloração fraca em amarelo obteve escore 1; expressão forte (+++) com coloração amarelo-forte a marrom, escore 3; expressão, moderada (++) com coloração entre amarelo e amarelo-forte, escore 2). O escore integrado representa o produto entre os escores de coloração e a porcentagem de células positivas ( $\geq 2$  representa um resultado positivo,  $\leq 1$  representa um resultado negativo). Trinta e oito das 137 pacientes CMTN apresentaram moderada expressão de RA, enquanto 110 das 132 pacientes não CMTN apresentaram expressão de AR de forte intensidade ( $p < 0,001$ ). A expressão de AR mostrou correlação com o estado pós-menopáusic, grau histológico 3 e ausência de metástases linfonodais em pacientes com tumores triplo-negativos, achados não encontrados no grupo controle (86)(tabela 8).

**Tabela 7 - A relação entre RA e características clinicopatológicas em pacientes CMTN e não CMTN**

Característica clinicopatológica	CMTN AR			P	Não CMTN AR			p
	Casos	+	-		Casos	+	-	
Idade (anos)				0,390				0,483
< 50	73	18	55		63	51	12	
> 50	64	20	44		69	59	10	
Estado menstrual				0,009				0,310
Pré-menopausa	75	14	61		64	53	8	
Pós-menopausa	62	24	38		71	5	14	
Tamanho do tumor				0,702				1,000
T1 + T2	83	24	59		102	85	17	
T3 + T4	54	14	40		30	25	5	
Metástases linfonodais				0,005				0,483
Não	71	24	44		69	59	10	
Sim	66	11	55		63	51	12	
Estágio				0,423				0,468
I	28	10	19		29	25	4	
II	54	16	38		58	50	8	
III	55	12	43		45	35	10	
Grau tumoral				0,023				0,099
I + II	48	19	29		57	44	13	
III	89	19	70		75	66	9	
Necrose tumoral				0,406				0,713
Não	113	33	80		117	100	17	
Sim	24	5	19		15	10	5	
Invasão vascular				0,403				0,095
Não	117	34	83		116	99	17	
Sim	20	4	16		16	11	5	
VEGF				0,460				0,115
Negativo	58	18	40		56	50	6	
Positivo	79	20	59		76	60	16	
P53				0,397				0,342
Negativo	57	18	39		54	47	7	
Positivo	80	20	60		78	63	15	
Ki67				0,311				0,230
Negativo	52	17	35		51	45	6	
Positivo	85	21	64		81	65	16	

Fonte: LUO, 2010 (86)

Nesse estudo, foi demonstrado, em análise univariada, que a expressão de AR, invasão vascular, tamanho do tumor primário, metástases linfonodais e estágio tumoral correlacionaram-se com sobrevida livre de doença e sobrevida global em cinco anos em pacientes com CMTN. A análise univariada demonstrou que a expressão de AR, tamanho do tumor e metástases linfonodais correlacionaram-se com sobrevida livre de doença e sobrevida geral em cinco anos (tabela 9).

O efeito da expressão de AR na sobrevida livre da doença condiz com o encontrado por Agoff *et al.*, na sobrevida geral, difere no CMTN (negativo para RP e HER2), piorando o comportamento do câncer e o prognóstico da doença (81).

**Tabela 8 - Análise univariada das características clinicopatológicas e prognóstico em CMT**

<b>Características clinicopatológicas</b>	<b>Casos</b>	<b>Sobrevida 5 anos (%)</b>	<b>p</b>
Tamanho do tumor			0,017
T1 + T2	83	85,5	
T3 + T4	54	68,5	
Matástases linfonodais			0,035
Não	71	85,9	
Sim	66	71,5	
Estágio			0,043
I	28	85,7	
II	54	85,1	
III	55	69,1	
Invasão vascular			0,026
Não	117	82,1	
Sim	20	60,0	
AR			0,018
Negativo	99	73,7	
Positivo	38	92,1	

Fonte: LUO, 2010 (86)

A expressão de AR teve relação positiva com aumento de sobrevida livre de doença e sobrevida geral em pacientes com tumor triplo-negativo em 5 anos, não

havendo essa correlação no grupo controle carcinoma de mama não triplo-negativo (86)(tabela 10).

**Tabela 9 - Correlação entre RA e diferentes subtipos de câncer de mama e sobrevida**

Item	Casos	AR		$\chi^2$	p
		+	-		
<b>CMTN</b>					
DFS (anos)				5,012	0,025
> 5	96	32	64		
< 5	41	6	36		
OS (anos)				5,552	0,018
> 5	108	35	73		
< 5	29	3	26		
<b>Não CMTN</b>					
DFS (anos)				0,941	0,332
> 5	97	79	18		
< 5	35	31	4		
OS (anos)				2,138	0,144
> 5	110	94	16		
< 5	22	16	6		

DFS = Sobrevida livre de doença  
OS = Sobrevida geral

Fonte: LUO, 2010 (86)

Hu *et al.* (87), realizaram um estudo retrospectivo que teve como objetivo determinar a associação da expressão de RA com sobrevida em pacientes com CM (87). Dentre 1.467 casos de CM, 79% eram RA-positivos. A maioria dos tumores RE positivos eram também RA positivos (88%). A positividade do RA foi associada a uma redução de mortalidade por CM (HR, 0,68; CI 95%, 0,47-0,99) e menor mortalidade global (HR, 0,70; CI 95%, 0,53-0,91). Os autores concluíram que a expressão de RA estava associada a um prognóstico mais favorável entre mulheres com tumores RE positivos (87).

Loibil *et al.* (75), em 2011, realizaram um estudo de casos e controles que investigou a prevalência da expressão do AR por imuno-histoquímica em vários subtipos de câncer primário de mama tratados com quimioterapia neoadjuvante. Outros objetivos foram determinar o impacto preditivo do AR sobre a taxa de resposta patológica completa após quimioterapia neoadjuvante, bem como o seu papel potencial como marcador de prognóstico em pacientes que não alcançaram PCR. Tecidos tumorais de biópsias de mama de 673 pacientes foram selecionados em um banco de tumores. As pacientes receberam dois ciclos de 3 semanas de TAC (doxorrubicina 50 mg/m<sup>2</sup>, ciclofosfamida 500 mg/m<sup>2</sup> e docetaxel 75 mg/m<sup>2</sup>). Se a resposta clínica fosse positiva, a terapia era continuada por mais quatro a seis ciclos. Se nenhuma resposta fosse identificada (se o tamanho do tumor diminuísse < 50%), a paciente recebia aleatoriamente mais quatro ciclos de TAC ou quatro ciclos de 3 semanas de vinorelbine 25 mg/m<sup>2</sup> no 1º e 8º dia, mais capecitabina 1.000 mg/m<sup>2</sup>, duas vezes por dia, nos dias 1-14. Os níveis de expressão de RA foram categorizados em escores (0-3). De acordo com essa classificação, 358 de 673 (53,2%) pacientes foram classificadas como positivas para a expressão do RE. A análise para a correlação dos fatores prognósticos clássicos para o CM revelou associação significativa entre a expressão de RA e idade ( $p = 0,028$ ), subtipo histológico ( $p = 0,002$ ), grau do tumor ( $p < 0,0001$ ) e RE/RP *status* ( $p < 0,0001$ ). A taxa de resposta completa (PCR) em todas as pacientes avaliadas foi de 18,7% (IC 95%, 15,8-21,6%). As pacientes com AR positivo ( $n = 358$ ) obtiveram uma PCR de 12,8% (IC 95% 9,3-16,3%) e 25,4% (IC 95% 20,6-30,2%,  $p < 0,0001$ ) nos pacientes com tumores AR negativos ( $n = 315$ ). Em uma análise multivariada, RA, HR e HER2 foram preditores significativos independentes de PCR (AR [IC 95%, 1,16-2,79]  $p = 0,0086$ )(75).

Havia 111 (16,5%) casos de CMTN disponíveis para análise. Nesse subgrupo, 71% (n = 87) foram RA negativos e 29% (n = 24) RA positivos. A taxa de PCR em todos os CMTNs foi de 32,4%; 29,2% para CMTN AR+, comparados com 33,3% para os CMTN AR- (p = 0,699). A análise multivariada nos CMTNs revelou apenas a idade como fator preditor independente para PCR (p = 0,015, IC 95%, 1,24-7,35). O RA gerou informação prognóstica no grupo CMTN. Pacientes que conseguiram uma PCR tiveram uma sobrevida melhor em comparação com aquelas que não alcançaram. As pacientes com CMTN que não atingiram PCR têm um prognóstico desfavorável e necessitam de opções de tratamento adicionais (75).

Novos compostos antiandrogênicos têm sido aventados como tratamento adicional em pacientes com CMTN e AR+ (75,88). Uma opção é bicalutamida, atualmente investigada por um grupo no *Memorial Sloan Kettering Cancer Center*, em CMs metastáticos, com receptores AR+ (22).

## 2.15 CARCINOMAS APÓCRINOS NO ESPECTRO DOS CARCINOMAS DE MAMA TRIPLO-NEGATIVOS

Tsutsumi *et al.* (76), em 2012, analisaram o significado do carcinoma apócrino (RE-/RP-/AR+) como parte do espectro dos tumores triplo-negativos. As expressões de receptores RE, PR e AR foram encontradas em 75%, 63% e 55% dos 440 casos de CM estudados, respectivamente. Entre os 324 casos de carcinoma ductal invasor, 72%, 60% e 53% demonstraram RE, RP e AR, respectivamente. Dos 173 CDI AR+, 25% eram RE-/RP- e caracterizados como carcinoma apócrino pela IHQ. Quanto aos carcinomas ductais *in situ*, 13 foram considerados do tipo apócrino. Os carcinomas apócrinos exibiram maior frequência de superexpressão do p53, menor Ki67 e menor frequência de tumores de grau histológico 3 quando comparados com os não apócrinos.

O carcinoma apócrino mostra comportamento clínico relativamente favorável. Do ponto de vista clinicopatológico, incluindo prognóstico, patogênese e resposta à terapia, os autores acreditam que o CMTN apócrino precisa ser distinguido do tipo não apócrino. A terapia hormonal utilizando AR como alvo pode ser usada no tumor

tipo apócrino. Além do mais, a resposta clínica à terapia anti-EGFR pode ser diferente entre os CMTNs apócrinos e os tumores quádruplos-negativos, o que deve ser avaliado em estudos futuros.

Os marcadores RE, RP, HER2, p53, EGFR, CK5/6 e CK14 não distinguem o carcinoma tipo apócrino do não apócrino e, como o carcinoma apócrino demonstrou ser bastante frequente entre as neoplasias de mama, os autores recomendam que o AR seja incorporado ao painel imuno-histoquímico para avaliação de CM. Os autores também acreditam que os critérios histológicos de diagnóstico do carcinoma apócrino sejam subjetivos e patologista dependentes.

Estudos prévios sobre perfil de expressão gênica demonstraram que o carcinoma apócrino possui um perfil genético diverso do carcinoma *basal-like*, sendo recomendado que seja considerado um CMTN, mas que haja uma distinção entre o carcinoma apócrino e o *basal-like* devido aos diferentes prognósticos. Análises adicionais devem ser feitas para avaliar se o carcinoma *basal-like* pode ser considerado um CMTN AR-, ou quádruplo-negativo (77).

## 2.16 RECEPTOR ANDRÓGENO COMO ALVO TERAPÊUTICO NOS CARCINOMAS DE MAMA TRIPLO-NEGATIVOS

O uso clínico de androgênio ou antagonistas está no início para pacientes de CM. Em um ensaio clínico particular, bicalutamida como antagonista de androgênio foi usada para estudar se haveria efeitos na progressão da doença de pacientes com CMTN. A avaliação está em curso, mas os primeiros relatos sugerem que bicalutamida pode ter efeito clínico positivo, porém a fisiopatologia por trás desse efeito não está clara (87,88).

Mais estudos clínicos devem ser executados em uma ampla gama de etnias e sob cuidadosa classificação dos vários grupos tumorais presentes no CMTN, para descobrir qual a ação desse andrógeno entre esses diversos subgrupos. Tal abordagem permitirá terapia mais personalizada. Além disso, as funções do metabolismo de andrógeno intratumoral são também uma área potencial de



interesse no CMTN. Até hoje nenhum estudo avaliou especificamente as enzimas androgênicas no CMTN e suas possíveis funções biológicas no metabolismo intratumoral em RE / RP +. A determinação da expressão enzimática, além do *status* do receptor, poderia selecionar um subgrupo de pacientes que têm sobrevida favorável.

As expressões das enzimas de metabolização esteroides parecem ser diferentes entre carcinoma ductal *in situ* (DCIS) e carcinoma ductal invasivo, sugerindo que essas vias possam desempenhar papel importante na progressão do CM. Se as enzimas de metabolização esteroides androgênicas provarem ser um alvo potencial, há um número de drogas que foram desenvolvidas anteriormente para câncer de próstata (87).

O papel da interação tumor-estroma e sua relação com qualquer ação endócrina ou apócrina no CMTN não pode ser menosprezado. O uso de agonista de androgênio ou antagonista poderia afetar profundamente o estroma e o tecido tumoral e estudos devem esclarecer o papel do estroma de CM no CMTN. Estudos limitados sugerem que um alto volume estromal no CMTN está associado a resultados clínicos adversos e que um marcador do metabolismo de estroma também está associado a resultado pior<sup>(69)</sup>. Pesquisas adicionais sobre as ações do androgênio sobre o metabolismo no compartimento estromal do CMTN esclarecerão o seu papel na etiologia e progressão desse subtipo particular de CM (89,90).

Há décadas sabe-se que os andrógenos influenciam o desenvolvimento mamário normal e a carcinogênese, mas somente nos últimos anos os mecanismos envolvidos vêm sendo elucidados. Até o presente, a maioria dos estudos sobre ação androgênica na mama está centrada em linhagens celulares, no entanto esses sistemas são artificiais e não necessariamente refletem a biologia celular, molecular e ambientes hormonais dos tumores *in vivo*. Daí a importância de estudar modelos *in vivo* que refletem o microambiente tumoral. Isto facilitará o entendimento e possível aplicação de terapia de modulação hormonal em casos indicados. Há evidências de que o RA pode servir como alvo terapêutico e biomarcador de prognóstico do fenotipo CMTN (77,81).

### 3 JUSTIFICATIVA

O câncer de mama é considerado o maior problema de saúde pública no mundo por ser a neoplasia com maior mortalidade. A busca por novos e específicos tratamentos é de relevante importância.

A escolha de condutas terapêuticas individualizadas proporciona uma abordagem mais eficaz e efetiva. Além disso, o estudo dos genes tumorais mostrou que é possível avançar sobre a atual classificação dos carcinomas mamários, permitindo separar tumores com perfis biológicos bem distintos, de onde poderão ser extraídas importantes decisões preditivas de sensibilidade tumoral às terapias disponíveis, bem como informações prognósticas.

Os subtipos tumorais já estabelecidos direcionam o tratamento e o prognóstico das pacientes. Porém o tratamento das portadoras de carcinoma triplo-negativo tem sido um desafio devido à heterogeneidade da doença e à ausência de alvos moleculares bem definidos.

O receptor andrógeno está implicado na patogênese do CM e na sua progressão, e foi identificado um padrão alterado de expressão nos tumores triplo-negativos. Diversos estudos têm demonstrado diferentes expressões dos receptores andrógenos nos carcinomas de mama triplo-negativos, buscando associá-las com características clinicopatológicas e prognósticas.

O papel do receptor andrógeno na carcinogênese da mama não está claro até o momento. Porém o receptor andrógeno pode tornar-se um potencial terapêutico como um alvo de tratamento.

Mais estudos clínicos devem ser executados em uma ampla gama de etnias e cuidadosa subclassificação de vários grupos de tumor presentes no CMTN, permitindo a identificação dos papéis de andrógenos nos diversos grupos.

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO PRIMÁRIO**

Investigar a associação da expressão do receptor de androgênio com variáveis clinicopatológicas e fatores prognósticos, em uma série de tumores de mama triplo-negativos (RE-, RP- e HER2-), na população do Rio Grande do Sul.

### **4.2 OBJETIVO SECUNDÁRIO**

Comparar os padrões de expressão do receptor de androgênio quanto aos seguintes fatores: idade, tipo e grau histológico, tamanho do tumor, comprometimento axilar, tempo livre de doença, sobrevida geral, metástases e óbito.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Embora o nosso estudo não tenha demonstrado que o AR é um marcador de bom prognóstico, consideramos esta linha de pesquisa promissora pela necessidade de encontrar novos alvos moleculares para o tratamento do câncer de mama, perseguindo a tendência atual da *Medicina Personalizada*. Apesar de importantes avanços já terem sido alcançados, a Oncogenética é uma área em que apenas estamos começando. Na história do manejo dessa neoplasia, antes do advento dos receptores estrogênicos e do tamoxifeno, os androgênios, em altas doses, eram utilizados no controle de metástases ósseas com resultados clínicos satisfatórios. É de se antever que estudos maiores, com amostragem bem mais expressiva e incluindo outras variáveis clínicas, talvez consigam identificar um sub-grupo de pacientes, dentro deste sombrio quadro do triplo-negativo, para as quais, possamos, realmente oferecer alternativas terapêuticas objetivas e efetivas.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Menke CH, Biazús J V., Xavier NL, Cavalheiro JA, Rabin EG, Bittelbrunn AC, et al. Rotinas em Mastologia [Internet]. 2<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artmed; 2006 [cited 2014 Aug 19]. Available from: <http://books.google.com/books?id=w7YY7Z6Yf5oC&pgis=1>
2. Soerjomataram I, Louwman MWJ, Ribot JG, Roukema JA, Coebergh JWW. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2008 Feb [cited 2014 Aug 18];107(3):309–30. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2217620&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
3. Elston CW, Ellis IO, Pinder SE. Pathological prognostic factors in breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* [Internet]. 1999 Aug [cited 2014 Aug 19];31(3):209–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10532196>
4. Viale G. Histopathology of primary breast cancer 2003. *Breast* [Internet]. 2003 Dec [cited 2014 Aug 19];12(6):391–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14659111>
5. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2003 Jul 8 [cited 2014 Jul 30];100(14):8418–23. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=166244&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
6. Harris L, Fritsche H, Mennel R, Norton L, Ravdin P, Taube S, et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol* [Internet]. 2007 Nov 20 [cited 2014 Aug 18];25(33):5287–312. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17954709>
7. 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* [Internet]. 2007 May 1 [cited 2014 Aug 19];109(9):1721–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17387718>

8. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* [Internet]. 2000 Aug 17 [cited 2014 Jul 25];406(6797):747–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10963602>
9. Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol* [Internet]. 2005 Oct 10 [cited 2014 Aug 19];23(29):7350–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16145060>
10. Rakha EA, El-Rehim DA, Paish C, Green AR, Lee AHS, Robertson JF, et al. Basal phenotype identifies a poor prognostic subgroup of breast cancer of clinical importance. *Eur J Cancer* [Internet]. 2006 Dec [cited 2014 Aug 19];42(18):3149–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17055256>
11. Morris GJ, Naidu S, Topham AK, Guiles F, Xu Y, McCue P, et al. Differences in breast carcinoma characteristics in newly diagnosed African-American and Caucasian patients: a single-institution compilation compared with the National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Cancer* [Internet]. 2007 Aug 15 [cited 2014 Aug 19];110(4):876–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17620276>
12. Haffty BG, Yang Q, Reiss M, Kearney T, Higgins SA, Weidhaas J, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* [Internet]. 2006 Dec 20 [cited 2014 Aug 19];24(36):5652–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17116942>
13. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2007 Aug 1 [cited 2014 Jul 30];13(15 Pt 1):4429–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17671126>
14. Burstein HJ, Elias AD, Rugo HS, Cobleigh MA, Wolff AC, Eisenberg PD, et al. Phase II study of sunitinib malate, an oral multitargeted tyrosine kinase inhibitor, in patients with metastatic breast cancer previously treated with an anthracycline and a taxane. *J Clin Oncol* [Internet]. 2008 Apr 10 [cited 2014 Aug 20];26(11):1810–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18347007>
15. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2004 Aug 15 [cited 2014

- Aug 18];10(16):5367–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15328174>
16. Finn RS, Dering J, Ginther C, Wilson CA, Glaspy P, Tchekmedyian N, et al. Dasatinib, an orally active small molecule inhibitor of both the src and abl kinases, selectively inhibits growth of basal-type/“triple-negative” breast cancer cell lines growing in vitro. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2007 Nov [cited 2014 Aug 20];105(3):319–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17268817>
  17. Ellard SL, Clemons M, Gelmon KA, Norris B, Kennecke H, Chia S, et al. Randomized phase II study comparing two schedules of everolimus in patients with recurrent/metastatic breast cancer: NCIC Clinical Trials Group IND.163. *J Clin Oncol* [Internet]. 2009 Sep 20 [cited 2014 Aug 19];27(27):4536–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19687332>
  18. Traina T., Wolff A., Giri D, Feigin K, Patil S, Yuan J. Androgen receptor inhibition for the treatment of AR+/ER-/PR- metastatic breast cancer. *Breast Cancer Symposium, San Francisco, CA, October 8-10, (Abstr 251)*. 2009.
  19. Dimitrakakis C, Bondy C. Androgens and the breast. *Breast Cancer Res* [Internet]. 2009 Jan [cited 2014 Aug 19];11(5):212. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2790857&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  20. Gucalp A, Traina TA. Triple-negative breast cancer: role of the androgen receptor. *Cancer J* [Internet]. [cited 2014 Aug 19];16(1):62–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20164692>
  21. Zeleniuch-Jacquotte A, Afanasyeva Y, Kaaks R, Rinaldi S, Scarmo S, Liu M, et al. Premenopausal serum androgens and breast cancer risk: a nested case-control study. *Breast Cancer Res* [Internet]. 2012 Jan [cited 2014 Aug 19];14(1):R32. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3496150&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  22. Sutton LM, Cao D, Sarode V, Molberg KH, Torgbe K, Haley B, et al. Decreased androgen receptor expression is associated with distant metastases in patients with androgen receptor-expressing triple-negative breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* [Internet]. 2012 Oct [cited 2014 Aug 19];138(4):511–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23010705>
  23. Ferlay J, Shin H., Bray F, Forman D, Mathers C., Parkin D. GLOBOCAN 2008, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10. Lyon,

- France: International Agency for Research on Cancer; Year. Available at: <http://globocan.iarc.fr>. 2010. 2010.
24. Iwasaki M, Tsugane S. Risk factors for breast cancer: epidemiological evidence from Japanese studies. *Cancer Sci* [Internet]. 2011 Sep [cited 2014 Aug 19];102(9):1607–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21624009>
  25. Brasil. INCA - Ministério da Saúde. Dados do registro de base populacional. Disponível em: [www.inca.gov.br/consenso\\_integra.pdf](http://www.inca.gov.br/consenso_integra.pdf). Acesso em: 7 jun. 2014. 2014.
  26. Gonçalves ATC, Jobim PFC, Vanacor R, Nunes LN, Albuquerque IM de, Bozzetti MC. Câncer de mama: mortalidade crescente na Região Sul do Brasil entre 1980 e 2002. *Cad Saude Publica* [Internet]. 2007 Aug [cited 2014 Aug 19];23(8):1785–90. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-311X2007000800005&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2007000800005&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)
  27. Shulman LP. Hereditary breast and ovarian cancer (HBOC): clinical features and counseling for BRCA1 and BRCA2, Lynch syndrome, Cowden syndrome, and Li-Fraumeni syndrome. *Obstet Gynecol Clin North Am* [Internet]. 2010 Mar [cited 2014 Aug 19];37(1):109–33, Table of Contents. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20494261>
  28. Netter FH. *Atlas de Anatomia Humana* [Internet]. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008 [cited 2014 Aug 20]. Available from: <http://books.google.com/books?id=jLaLo4dRwz0C&pgis=1>
  29. Fernandes G dos S, Calabrich A, Katz A. Triple negative breast cancer: clinical, laboratorial and therapeutic aspects: [review]. *Rev bras Mastol*. 2009;19(2):76–82.
  30. Tavassoli F., Devilee P. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. *Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs*. Lyon: International Agency for Research on Cancer. 2003.
  31. Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2002 Jun [cited 2014 Aug 20];2(6):442–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12189386>
  32. Stingl J, Caldas C. Molecular heterogeneity of breast carcinomas and the cancer stem cell hypothesis. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2007 Oct [cited 2014



- Aug 19];7(10):791–9. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17851544>
33. Perou CM, Børresen-Dale A-L. Systems biology and genomics of breast cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2011 Feb [cited 2014 Aug 19];3(2). Available from:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3039533&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
34. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2003 Apr 1 [cited 2014 Aug 12];100(7):3983–8. Available from:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=153034&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
35. Hamburger AW, Salmon SE. Primary bioassay of human tumor stem cells. *Science* [Internet]. 1977 Jul 29 [cited 2014 Aug 20];197(4302):461–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/560061>
36. Cairns J. Somatic stem cells and the kinetics of mutagenesis and carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2002 Aug 6 [cited 2014 Aug 20];99(16):10567–70. Available from:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=124976&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
37. Gobbi H. Classificação dos tumores da mama: atualização baseada na nova classificação da Organização Mundial da Saúde de 2012. *J Bras Patol e Med Lab* [Internet]. 2012 Dec [cited 2014 Aug 20];48(6):463–74. Available from:  
[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1676-24442012000600013&lng=pt&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442012000600013&lng=pt&nrm=iso&tlng=en)
38. Todd JH, Dowle C, Williams MR, Elston CW, Ellis IO, Hinton CP, et al. Confirmation of a prognostic index in primary breast cancer. *Br J Cancer* [Internet]. 1987 Oct [cited 2014 Aug 19];56(4):489–92. Available from:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2001834&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
39. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AHS, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer* [Internet]. 2007 Jan 1 [cited 2014 Aug 19];109(1):25–32. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17146782>

40. Perou CM. Molecular stratification of triple-negative breast cancers. *Oncologist* [Internet]. 2011 Jan [cited 2014 Aug 19];16 Suppl 1:61–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21278442>
41. Reis-Filho JS, Tutt ANJ. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology* [Internet]. 2008 Jan [cited 2014 Aug 5];52(1):108–18. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18171422>
42. Kim M-J, Ro JY, Ahn S-H, Kim HH, Kim S-B, Gong G. Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer: a comparison with hormone receptor and Her2/neu-overexpressing phenotypes. *Hum Pathol* [Internet]. 2006 Sep [cited 2014 Aug 19];37(9):1217–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16938528>
43. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2007 Apr 15 [cited 2014 Aug 19];13(8):2329–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17438091>
44. Untch M, Gerber B, Harbeck N, Jackisch C, Marschner N, Möbus V. 13th St. Gallen International Breast Cancer Conference 2013: Primary Therapy of Early Breast Cancer Evidence, Controversies, Consensus- Opinion of a German Team of Experts (Zurich 2013) *Breast Care*. 2013. 2013.
45. Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2009 May 20 [cited 2014 Aug 4];101(10):736–50. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2684553&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
46. Sørli T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2001 Sep 11 [cited 2014 Aug 17];98(19):10869–74. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=58566&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
47. Sotiriou C, Neo S-Y, McShane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2003 Sep 2 [cited 2014 Aug 19];100(18):10393–8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=193572&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

48. Carvalho FM, Bacchi LM, Santos PPC, Bacchi CE. Triple-negative breast carcinomas are a heterogeneous entity that differs between young and old patients. *Clinics (Sao Paulo)* [Internet]. 2010 Jan [cited 2014 Aug 19];65(10):1033–6. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2972605&tool=pmc.ncbi&rendertype=abstract>
49. Corrêa PB, Toralles MBP, Abe-Sandes K, Machado TMB, Bomfim TF, Meyer L, et al. Câncer de mama triplo negativo e sua associação com ancestralidade africana. *Rev Ciências Médicas e Biológicas*. 2010;9(1):3–7.
50. Adamo B, Anders CK. Stratifying triple-negative breast cancer: which definition(s) to use? *Breast Cancer Res* [Internet]. 2011 Jan [cited 2014 Aug 19];13(2):105. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3219193&tool=pmc.ncbi&rendertype=abstract>
51. Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, Broeks A, van Leeuwen FE, Wesseling J, et al. Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Med* [Internet]. 2010 May [cited 2014 Aug 19];7(5):e1000279. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2876119&tool=pmc.ncbi&rendertype=abstract>
52. Peng Y. Potential prognostic tumor biomarkers in triple-negative breast carcinoma. *Beijing Da Xue Xue Bao* [Internet]. 2012 Oct 18 [cited 2014 Aug 19];44(5):666–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23073572>
53. Science W of. Web of Science. 2012.
54. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest* [Internet]. 2011 Jul [cited 2014 Jul 15];121(7):2750–67. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3127435&tool=pmc.ncbi&rendertype=abstract>
55. Masuda H, Baggerly KA, Wang Y, Zhang Y, Gonzalez-Angulo AM, Meric-Bernstam F, et al. Differential response to neoadjuvant chemotherapy among 7 triple-negative breast cancer molecular subtypes. *Clin Cancer Res* [Internet].

- 2013 Oct 1 [cited 2014 Aug 12];19(19):5533–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23948975>
56. Olefsky JM. Nuclear receptor minireview series. *J Biol Chem* [Internet]. 2001 Oct 5 [cited 2014 Jul 31];276(40):36863–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11459855>
57. Pretrolli RJ. Análise molecular do gene receptor de andrógeno, em pacientes 46 XY com ambiguidade genital e produção normal de testosterona. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biologia Unicamp. 2010. 2010.
58. Zhou J, Anderson K, Bievre M, Ng S, Bondy CA. Primate mammary gland insulin-like growth factor system: cellular localization and regulation by sex steroids. *J Investig Med* [Internet]. 2001 Jan [cited 2014 Aug 19];49(1):47–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11217147>
59. Avila DM, Zoppi S, McPhaul MJ. The androgen receptor (AR) in syndromes of androgen insensitivity and in prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* [Internet]. 2001 [cited 2014 Aug 20];76(1-5):135–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11384871>
60. Park JJ, Irvine RA, Buchanan G, Koh SS, Park JM, Tilley WD, et al. Breast cancer susceptibility gene 1 (BRCA1) is a coactivator of the androgen receptor. *Cancer Res* [Internet]. 2000 Nov 1 [cited 2014 Aug 20];60(21):5946–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11085509>
61. Spurdle AB, Antoniou AC, Duffy DL, Pandeya N, Kelemen L, Chen X, et al. The androgen receptor CAG repeat polymorphism and modification of breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Breast Cancer Res* [Internet]. 2005 Jan [cited 2014 Aug 20];7(2):R176–83. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1064126&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
62. Meehan KL, Sadar MD. Androgens and androgen receptor in prostate and ovarian malignancies. *Front Biosci* [Internet]. 2003 May 1 [cited 2014 Aug 20];8:d780–800. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12700055>
63. Margolis RN, Evans RM, O'Malley BW. The Nuclear Receptor Signaling Atlas: development of a functional atlas of nuclear receptors. *Mol Endocrinol* [Internet]. 2005 Oct [cited 2014 Aug 20];19(10):2433–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16051673>

64. Hankinson SE, Willett WC, Manson JE, Colditz GA, Hunter DJ, Spiegelman D, et al. Plasma sex steroid hormone levels and risk of breast cancer in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 1998 Sep 2 [cited 2014 Aug 20];90(17):1292–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9731736>
65. Burger HG. Androgen production in women. *Fertil Steril* [Internet]. 2002 Apr [cited 2014 Aug 18];77 Suppl 4:S3–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12007895>
66. Hickey TE, Robinson JLL, Carroll JS, Tilley WD. Minireview: The androgen receptor in breast tissues: growth inhibitor, tumor suppressor, oncogene? *Mol Endocrinol* [Internet]. 2012 Aug [cited 2014 Aug 20];26(8):1252–67. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3404296&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
67. McNamara KM, Yoda T, Takagi K, Miki Y, Suzuki T, Sasano H. Androgen receptor in triple negative breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* [Internet]. 2013 Jan [cited 2014 Aug 19];133:66–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22982153>
68. Lippman M, Bolan G, Huff K. The effects of androgens and antiandrogens on hormone-responsive human breast cancer in long-term tissue culture. *Cancer Res* [Internet]. 1976 Dec [cited 2014 Aug 19];36(12):4610–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1000506>
69. Cox DG, Blanché H, Pearce CL, Calle EE, Colditz GA, Pike MC, et al. A comprehensive analysis of the androgen receptor gene and risk of breast cancer: results from the National Cancer Institute Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium (BPC3). *Breast Cancer Res* [Internet]. 2006 Jan [cited 2014 Aug 20];8(5):R54. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1779488&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
70. Davis SR, Moreau M, Kroll R, Bouchard C, Panay N, Gass M, et al. Testosterone for low libido in postmenopausal women not taking estrogen. *N Engl J Med* [Internet]. 2008 Nov 6 [cited 2014 Aug 20];359(19):2005–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18987368>
71. Tang D, Xu S, Zhang Q, Zhao W. The expression and clinical significance of the androgen receptor and E-cadherin in triple-negative breast cancer. *Med Oncol* [Internet]. 2012 Jun [cited 2014 Aug 20];29(2):526–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21519872>

72. Mahler-Araujo B, Savage K, Parry S, Reis-Filho JS. Reduction of E-cadherin expression is associated with non-lobular breast carcinomas of basal-like and triple negative phenotype. *J Clin Pathol* [Internet]. 2008 May [cited 2014 Aug 20];61(5):615–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18156431>
73. Niemeier LA, Dabbs DJ, Beriwal S, Striebel JM, Bhargava R. Androgen receptor in breast cancer: expression in estrogen receptor-positive tumors and in estrogen receptor-negative tumors with apocrine differentiation. *Mod Pathol* [Internet]. 2010 Feb [cited 2014 Aug 20];23(2):205–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19898421>
74. Farmer P, Bonnefoi H, Becette V, Tubiana-Hulin M, Fumoleau P, Larsimont D, et al. Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis. *Oncogene* [Internet]. 2005 Jul 7 [cited 2014 Aug 20];24(29):4660–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15897907>
75. Loibl S, Müller BM, von Minckwitz G, Schwabe M, Roller M, Darb-Esfahani S, et al. Androgen receptor expression in primary breast cancer and its predictive and prognostic value in patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2011 Nov [cited 2014 Aug 19];130(2):477–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21837479>
76. Tsutsumi Y. Apocrine carcinoma as triple-negative breast cancer: novel definition of apocrine-type carcinoma as estrogen/progesterone receptor-negative and androgen receptor-positive invasive ductal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* [Internet]. 2012 May [cited 2014 Aug 19];42(5):375–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22450930>
77. Qi J-P, Yang Y-L, Zhu H, Wang J, Jia Y, Liu N, et al. Expression of the androgen receptor and its correlation with molecular subtypes in 980 chinese breast cancer patients. *Breast Cancer (Auckl)* [Internet]. 2012 Jan [cited 2014 Aug 20];6:1–8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3256731&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
78. Choi J, Jung W-H, Koo JS. Clinicopathologic features of molecular subtypes of triple negative breast cancer based on immunohistochemical markers. *Histol Histopathol* [Internet]. 2012 Nov [cited 2014 Aug 7];27(11):1481–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23018247>
79. Park S, Koo JS, Kim MS, Park HS, Lee JS, Kim SI, et al. Androgen receptor expression is significantly associated with better outcomes in estrogen

- receptor-positive breast cancers. *Ann Oncol* [Internet]. 2011 Aug [cited 2014 Aug 19];22(8):1755–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21310761>
80. Doane AS, Danso M, Lal P, Donaton M, Zhang L, Hudis C, et al. An estrogen receptor-negative breast cancer subset characterized by a hormonally regulated transcriptional program and response to androgen. *Oncogene* [Internet]. 2006 Jun 29 [cited 2014 Aug 19];25(28):3994–4008. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16491124>
  81. Agoff SN, Swanson PE, Linden H, Hawes SE, Lawton TJ. Androgen receptor expression in estrogen receptor-negative breast cancer. Immunohistochemical, clinical, and prognostic associations. *Am J Clin Pathol* [Internet]. 2003 Nov [cited 2014 Aug 20];120(5):725–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14608899>
  82. Harbhajanka A, Lamzabi I, Singh RI, Ghai R, Reddy VB, Bitterman P, et al. Correlation of clinicopathologic parameters and immunohistochemical features of triple-negative invasive lobular carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* [Internet]. 2014 Jul [cited 2014 Aug 20];22(6):e18–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25003839>
  83. Vranic S, Gatalica Z, Wang Z-Y. Update on the molecular profile of the MDA-MB-453 cell line as a model for apocrine breast carcinoma studies. *Oncol Lett* [Internet]. 2011 Jan [cited 2014 Aug 19];2(6):1131–7. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3224077&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  84. Peters AA, Buchanan G, Ricciardelli C, Bianco-Miotto T, Centenera MM, Harris JM, et al. Androgen receptor inhibits estrogen receptor-alpha activity and is prognostic in breast cancer. *Cancer Res* [Internet]. 2009 Aug 1 [cited 2014 Aug 19];69(15):6131–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19638585>
  85. Ni M, Chen Y, Lim E, Wimberly H, Bailey ST, Imai Y, et al. Targeting androgen receptor in estrogen receptor-negative breast cancer. *Cancer Cell* [Internet]. 2011 Jul 12 [cited 2014 Aug 20];20(1):119–31. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3180861&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  86. Luo X, Shi Y., Li Z., Jiang WQ. Expression and clinical significance of androgen receptor in triple negative breast cancer. Department of Medical Oncology, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou, Guangdong 510060, P.R. China, 585-90. 2010.

87. Hu R, Dawood S, Holmes MD, Collins LC, Schnitt SJ, Cole K, et al. Androgen receptor expression and breast cancer survival in postmenopausal women. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2011 Apr 1 [cited 2014 Aug 19];17(7):1867–74. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3076683&tool=pmc.ncbi&rendertype=abstract>
88. Gucaip A, Tolaney S, Isakoff SJ, Ingle JN, Liu MC, Carey LA, et al. Phase II trial of bicalutamide in patients with androgen receptor-positive, estrogen receptor-negative metastatic Breast Cancer. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2013 Oct 1 [cited 2014 Aug 20];19(19):5505–12. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4086643&tool=pmc.ncbi&rendertype=abstract>
89. McNamara KM, Yoda T, Miki Y, Chanplakorn N, Wongwaisayawan S, Incharoen P, et al. Androgenic pathway in triple negative invasive ductal tumors: its correlation with tumor cell proliferation. *Cancer Sci* [Internet]. 2013 May [cited 2014 Aug 19];104(5):639–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23373898>
90. Moorman AM, Vink R, Heijmans HJ, van der Palen J, Kouwenhoven EA. The prognostic value of tumour-stroma ratio in triple-negative breast cancer. *Eur J Surg Oncol* [Internet]. 2012 Apr [cited 2014 Aug 20];38(4):307–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22264965>



**6 ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS****ANDROGEN RECEPTOR STATUS IN A SERIES OF  
TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCERS**

Mirian Luisa Pedron MD<sup>1</sup>, Sidia Maria Callegari-Jacques PhD<sup>3</sup>, Diego Uchôa MD PhD<sup>2</sup>, Ermani Cadore MD<sup>2</sup>, João Pedron Martins MD<sup>4</sup>, Marcia Silveira Graudenz MD PhD<sup>1,2</sup>

- <sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil
- <sup>2</sup> Departamento de Patologia, UFRGS
- <sup>3</sup> Departamento de Estatística, UFRGS
- <sup>4</sup> Residente do Departamento de Cirurgia Geral, UFRGS

**Address (corresponding author):**

Marcia Silveira Graudenz, MD, Ph.D, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos, 2350, Bom Fim, CEP: 90035-903

Phone number: +55 51 3359 8313

Fax number: +55 51 3359 8334

Email: [ppgcm@ufrgs.br](mailto:ppgcm@ufrgs.br)

Porto Alegre – RS – Brasil

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Triple negative breast carcinomas (TNBC) are a heterogeneous group of tumors characterized by poor patient survival and lack of targeted therapies. Androgen receptor (AR) has been described in TNBC but the prognostic impact of the expression in this subgroup of tumors is not clear. **OBJECTIVE:** To investigate the association of AR expression status by immunohistochemistry in TNBC cases with clinical (age, survival) and pathological variables (tumor size, tumor grade). **METHODS:** 62 TNBC were analyzed by automated immunohistochemistry for androgen receptor. Immunohistochemistry was scored by two investigators and biomarker expression was assessed by H-Score (intensity plus the percentage of staining). Kaplan-Meier was used to evaluate overall survival, where differences in distributions were evaluated based on marker expression. **RESULTS:** 26% of TNBC were AR-positive (n = 16) and 74% AR negative (n = 46). All AR-positive cases occurred in women  $\geq$  40 years, while 13% of AR-negative cases were seen in women  $\leq$  40 years 93% (52/56) of all TNBC were infiltrating ductal carcinomas of no special type (ICNST) and 14/15 (93%) of AR-positive cases were ICNST. Tumor size varied from 2-4.9 cm in the majority of AR-positive cancers (n = 8/13; 62%). 60% (n = 9/15) of AR-positive cases showed histological grade 3 tumors, followed by 27% of grade 2 tumors. No differences were observed between AR-positive and AR-negative patients when compared for age, tumor size, tumor grade and tumor type (all  $p > 0.17$ ). AR immunohistochemical positivity was also not associated with better overall survival ( $p = 0.737$ , N = 51) or disease-free survival ( $p = 0.552$ ; N = 45) in TNBCs. **CONCLUSION:** From the prognostic point of view, AR immunoreactivity has been associated with better overall patient survival. This result was not confirmed in our series. This could be related to the relatively small series of analyzed samples and to the low prevalence of AR-positive cases in this specific breast cancer subtype. Further studies with bigger samples are needed to investigate this biomarker in TNBC.

**Key Words:** Androgen receptor; Breast Cancer; Immunohistochemical markers; Triple negative.

## INTRODUCTION

The classification of invasive breast cancer currently involves criteria based on histology, morphology and immunohistochemistry. Traditional pathologic parameters, such as tumor size, axillary invasion and histologic grade have been correlated with immunohistochemical markers estrogen receptors (ER), progesterone receptor (PR) and human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in determining the prognosis and choice of treatment (1–3). Hormone receptor-positive breast cancers account for around 75-80% of all cases. In contrast, HER-positive tumors are identified in around 15-20%, nearly half of these co-expressing hormone receptors (4). The remaining 10-15% are triple-negative breast cancers (TNBC), defined by the absence of expression of hormone receptors and HER2 (5–7).

Regarding cancer therapy, there are specific modalities for women with hormone receptor and HER2-positive carcinomas; however, for women with TNBC, chemotherapy is the only treatment available. As this is an aggressive cancer (31-32), with poor prognosis and lack of therapeutic options, TNBC has been the target of major interest in medical investigation.

Although classifying breast tumors based on histologic criteria has shown to be useful over the years, it presents relevant number of constraints. Firstly, there is considerable variation in the response to clinical therapy, even for tumors with apparent similarities in their clinical and pathologic features. Secondly, this classification provides a limited view of breast cancer regarding the biology and molecular pathways of disease progression. Over the last years, the knowledge about gene expression has provided a new classification method for breast tumors based on the identification of clinically relevant molecular subtypes: luminal A, luminal B, HER2 overexpression, normal breast tissue-like and basal-like (8–11). The difference in gene expression patterns between the subtypes reflects basic changes to the cell biology of tumors. In addition, molecular differences between tumor subtypes have been associated with significant variation in the clinical outcome (11,12).

The treatment of patients with TNBC has been a challenge due to the heterogeneity of the disease and absence of well-defined molecular targets (13–15–38). TNBC often affects young patients and is more prevalent among women of African ancestry (16). TNBC usually is a large tumor, of high grade, showing involvement of lymphatic ganglia at the time of diagnosis and being biologically more aggressive (17). Despite higher rates of clinical response to neoadjuvant therapy, patients have a higher relapse rate and worse prognosis than women with other breast cancer subtypes (17-18). Less than 30% of women with TNBC survive for 5 years and almost all of them die from the disease in spite of adjuvant chemotherapy, which is the basis for treatment (18).

Studies identifying molecular markers for TNBC, such as VEGF (19), EGFR (20), Src (21) and Mtor (mammalian target of rapamycin) (22) have been important for the creation of new clinical trials with guided treatments. No treatment regimen has been established so far for TNBC. As a result, mortality is high (23). Therefore, new prognostic indicators and approaches for the treatment of TNBC should be developed. Over the last years, several targets of interest have been studied, including androgen receptor (AR) and E-cadherin (24–27).

Recent studies demonstrate that triple-negative tumors actually do not form a discrete molecular category, but rather a heterogeneous group of tumors. Lehmann *et al.* described six subtypes of triple-negative carcinomas using gene expression analysis: basal-1, basal-2, immunomodulatory, mesenchymal-like, mesenchymal stem-like and luminal androgen (30). AR belongs to a family of steroid receptors and is expressed in around 35-75% of all breast cancers. In addition, AR has been implied in the pathogenesis of breast cancer and its progression (28-29–35). In triple-negative tumors, AR expression has been observed in 25-35% of the cases (33,34). A previous study conducted on AR expression in triple-negative carcinomas has shown that a negative status for AR is associated with lower disease-free survival and lower overall survival, suggesting that AR may serve as a therapeutic target and prognostic biomarker for this subset of triple-negative breast cancer types (36–41-46). However, similar studies should be conducted in populations of different ethnic compositions, using careful sub classification of tumors in TNBC. This approach could reveal the role of androgens in the development of various TNBC. In this study, the association of AR expression with clinicopathological characteristics and

prognostic factors were investigated in 62 TNBC samples obtained from Southern Brazilian women.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Samples**

Triple-negative tumor samples were selected from a sequential series of pathology reports obtained from patients who were subjected to diagnostic procedures or surgery or immunohistochemistry (IHC) reactions at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Southern Brazil, between January 2001 and December 2006.

This study was previously submitted to and approved by the Research and Postgraduate Studies Group Research Ethics Committee, (GPPG 110263) of HCPA. The original group consisted of 133 paraffin tumor blocks; however, 24 samples were excluded because their triple-negative nature was not confirmed (ER + = 1, PR + = 1, undetermined HER2 = 9, HER2 + = 13), 17 samples were excluded due to technical and pathologic reasons (no tumor = 14, carcinoma in situ = 1, artifact = 1, bone marrow = 1), and 12 samples were excluded due to lack of data. The final study group comprised 80 triple-negative breast carcinoma cases. Of these, 18 did not show tumor tissue, resulting in the final 62 case sample.

### **Clinicopathological data**

Information on histologic type, tumor size, histologic grade, lymph node status was obtained from anatomopathological reports. Information on age, date of primary treatment and clinical follow-up was obtained from the Hospital and from private medical records, as well as from telephone contacts with patients.

### **Tissue Microarray**

Original tissue microarrays (TMA) were built containing 62 formalin-fixed paraffin-embedded tumor samples. All samples were reexamined histologically, and

tumor regions of interest were selected for perforation yielding cylinders with 2 mm in diameter.

### **Immunohistochemistry**

The immunohistochemical reaction was performed using the automated BenchMark ULTRA (Roche) system on 3- $\mu$ m thick sections obtained from the TMA blocks, following a specific protocol for the Androgen Receptor antibody (AR) (clone SP 107, Cell Marque). The automated immunohistochemistry protocol included antigen retrieval (HIER) with ultra CC1 buffer (pH8) at 95°C for 64 minutes, AR antibody incubation (1:200 dilution) for 32 minutes, detection with multimeter and DAB labeling. Counterstaining was performed with Mayer's hematoxylin and lithium carbonate.

### **Immunohistochemical evaluation of androgen receptor expression**

The slides were assessed by two independent pathologists experienced in breast pathology. Staining intensity was scored as: 1 (+, weak); 2 (++, moderate); 3 (+++, intense). The percentage of staining was scored as: 1 (< 1% of the cells); 2 (1- 9.9%); 3 (10-29.9%); 4 (30-69.9%); 5 ( $\geq$  70%). The H score, similar to the estrogen and progesterone hormone receptor Allred score, was obtained by adding the intensity and the staining grades; tumors with  $H \geq 3$  were considered positive for androgen receptor (26).

### **Statistical analysis**

For description of variables, means and range were used for continuous and percentage for categorical variables. The difference between androgen receptor positive and negative tumors was tested using the Mann-Whitney test for continuous variables and Fisher's exact test for categorical variables. For prognostic inference, Kaplan-Meier (KM) survival curves were obtained from the date of surgery or biopsy to the date of the last follow-up record or death and compared using the log-rank test.

SPSS for Windows v. 18.0, was used for data analysis. A p value of 0.05 was considered the threshold for statistical significance.

## RESULTS

*Patients and pathological characteristics.* The clinicopathological characteristics of the patients are summarized in Table 1. The mean age of patients was 55.4 (range 26-82) years. For the other characteristics, sample size varied due to data availability. 93% of 56 samples were invasive ductal carcinomas. Most of the samples were grade 3 tumors (66% out of 50), tumors with 2 cm or more (77% out of 51) and stage II tumors (62% out of 48). Nodal status was positive in 29 (57% out of 51) cases. The mean follow-up time for 51 women was 71 months (range 2 – 305).

Age at diagnosis, histological type and grade, tumor size and stage, and nodal status did not differ between AR (+) and AR (-) cases (all  $p \geq 0.20$ ). Follow-up data could not be obtained for all patients.

*Expression of Androgen Receptor in TNBC.* Table 2 describes the results for the expression of the androgen receptor in 62 cases of TNBC. Positive expression (H score  $\geq 3$ ) was observed in 16 (26%) of the cases. About one third of these cases showed weakly positive AR tumors (H score = 3), whereas strongly positive carcinomas (H score = 6 or higher values) were observed in 31% of the tumors. Figures 1 and 2 are representatives of TNBC tumor slides observed. All AR-positive cases occurred in women  $\geq 40$  years, while 13% of AR-negative cases were seen in women  $\leq 40$  years.

*Clinicopathological correlation and multivariate analysis.* The median survival time was 119 months and 93 months for AR (+) and AR (-) patients respectively, but the Kaplan Meier survival curves did not differ statistically [ $p = 0.737$ ;  $n = 51$ ; figure 3]. The overall median survival time was 96 months (0.95 confidence interval: 57-135 months) and the survival probability in 60 months (5 years) was 0.645. Disease-free survival did not differ between AR(+) and AR(-) patients also ( $p = 0.552$ ;  $n = 45$ ; figure 4).

This study was initiated to determine the prevalence of AR positivity when assessed uniformly among 62 triple-negative invasive breast carcinomas and correlate AR positivity with clinicopathological characteristics. Our major interest was to determine the frequency of tumors that are AR+ as this could provide a new therapeutic option for the so-called “triple negative” carcinomas.

The frequency of AR positivity among triple negative breast carcinomas (TNBC) varies from 6.6% to 75% (14-34-40). In our series we found 26% of AR expression in TNBC. This relatively high prevalence of AR+ tumors among 62 triple negative carcinomas is an important finding in support of routine assessment of AR in at least all TNBCs and apocrine carcinomas as a potential target for therapy. A recent paper by Safarpour *et al.* (2014) has shown a 36% prevalence of AR positivity in 400 consecutive invasive mammary carcinomas (45).

Expression of AR has been considered as prognostically favorable (14-46–47-48). Until the 1970s, breast cancer was treated mostly with non-aromatizable androgens such as dihydrotestosterone or fluoxymesterone (49-50). AR is the most highly expressed receptor in breast cancer with more than 75–95% of ER-positive and 40–70% of ER-negative breast cancers expressing AR (43–51-52-53-54). Other studies found inverse correlation between AR expression and progression-free survival both in ER positive and triple-negative breast cancers (39-44). A recent paper by Tsutsumi *et al.* (2012), recommends the use of AR as one of the three proteins to classify breast cancers and should be incorporated into the immunohistochemical panel for evaluation of breast cancer, as apocrine carcinoma (AR +) is quite frequent in breast cancers. This study proposes the term quadruple-negative for TNBC and AR-negative cancers (non-apocrine type) (42).

In our series, AR positivity was not associated with increased overall survival or disease-free survival in TNBC. This result could be related to the relatively small number of analyzed samples, or as a consequence of low prevalence of AR positive cases in this specific breast cancer subtype. In keeping with our negative results, Park *et al.* (2011) reported that AR was positively related to survival in ER-positive but not in ER-negative tumors (44).



It is difficult to compare the characteristics of the triple among different studies, since the definition of triple negative is not well established. Some authors consider the triple negative subtype as part of the basal-like subtype (15-24), and some consider it an independent group (18-36). In the present study the triple negative classification used was ER(-), PR(-) and Her2(-) cases, as described by Sorlie *et al.* (2003), and Gucalp *et al.* (2010) (10-29). The prevalence of TNBC depends on the threshold for positivity of biomarkers used in various studies. The latest CAP/ASCO guideline for ER and PR assessment (55) has recommended a threshold of 1% for positivity. The threshold for HER2 positivity has been reduced from 30% to 10% when using the immunohistochemical (IHC) approach and for *in situ* hybridization, the HER2/CEP17 ratio required for gene amplification is now  $\geq 2$  (reduced from 2.2) or a HER2 copy number of  $\geq 6$  signals per cell (56).

For AR, we used the same threshold ( $\geq 1\%$ ) proposed by the 2011 ASCO/CAP guidelines (53) for ER and PR, but more evidence would be valuable to determine the optimal approach for interpretation of positivity for all these markers rather than switching from 10% to 1% in cases of ER/PR and to 30% for HER2 in the 2011 guidelines; the latter has been changed back to 10% in the 2013 ASCO/CAP, HER2 guidelines (56). At least some of the Her2 negative cases by the 2007 ASCO/CAP standards (57) would qualify as positive by the current 2013 guidelines (56). It is very important to correlate the threshold of positivity with the level of response in order to optimally select the threshold that provides a certain level of response to a given therapy; one may have to use different thresholds for treatment of primary versus recurrent or metastatic tumors.

Patients in our series present different characteristics when compared to other studies (17,18,37). For example, in the sample studied by Carey *et al.* (2006), patients were a decade younger, had a higher prevalence of grade 3 tumors (81%) and a lower frequency of positive nodal status (41%) than in our series. On the other hand, Haffy *et al.* (2006) studied cases in which tumor size  $< 2\text{cm}$  were more frequent (58%) and positive nodal status less than observed (25%). In both studies, IDC histological type was observed in lower percentage of cases (84-85%) than in our series (95%). The most comparable sample is that of Dent *et al.* (2007), which showed similar average age, and percentages of histological grade 3 and positive nodal status. But the frequency of small tumors ( $< 2\text{ cm}$ ) was higher than in our

sample (37% vs 23%). These differences can be explained by partial inefficiency of breast cancer screening programs in Brazil, where patients arrive for treatment when the disease is already in a more advanced stage. The mean age at the diagnosis of the primary disease in our series is at least 2 years higher than in other studies, and the profile is worse in all aspects observed, which confirms that in our country patients are diagnosed in more advanced stages of the illness.

The results of our study can be also compared with those of the study by Luo *et al.* (14) (2011), who studied clinical and pathological characteristics and the expression of AR in a series of 137 TNBC and 132 non-TNBC. In both studies grade III tumors (> 60%) prevailed, although in the study by Luo this frequency was lower in AR-positive cases (21%) compared to AR-negative cases (78%); T<sub>1</sub>T<sub>2</sub> tumors prevailed in both studies, but the frequency was greater in the Brazilian sample; lymph node positivity was similar in both studies occurring respectively in 61% and in 66% of cases. In the Chinese study, stage II was less frequent and was observed in 42% of 38 patients with AR-positive tumors and in 38% of 100 AR-negative cases. The authors found an association between AR expression and survival in breast cancer patients: the expression of AR is related to increased disease-free survival after 5 years and overall survival in patients with triple-negative tumors. However, our results are not in agreement with these findings, which may be due to the smaller sample size or population differences.

Despite the several studies described, there is yet to be a consensus on an association between AR expression and greater survival. Further studies are expected to elucidate the relevance of AR in triple-negative breast cancer and the possibility of blocking its proliferation through targeted therapy.

## REFERENCES

1. Elston CW, Ellis IO, Pinder SE. Pathological prognostic factors in breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* [Internet]. 1999 Aug [cited 2014 Aug 19];31(3):209–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10532196>
2. Soerjomataram I, Louwman MWJ, Ribot JG, Roukema JA, Coebergh JWW. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2008 Feb [cited 2014 Aug 18];107(3):309–30. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2217620&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
3. Harris L, Fritsche H, Mennel R, Norton L, Ravdin P, Taube S, et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol* [Internet]. 2007 Nov 20 [cited 2014 Aug 18];25(33):5287–312. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17954709>
4. Konecny G, Pauletti G, Pegram M, Untch M, Dandekar S, Aguilar Z, et al. Quantitative association between HER-2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor-positive primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2003 Jan 15 [cited 2014 Aug 19];95(2):142–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12529347>
5. Kim M-J, Ro JY, Ahn S-H, Kim HH, Kim S-B, Gong G. Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer: a comparison with hormone receptor and Her2/neu-overexpressing phenotypes. *Hum Pathol* [Internet]. 2006 Sep [cited 2014 Aug 19];37(9):1217–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16938528>
6. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2004 Aug 15 [cited 2014 Aug 18];10(16):5367–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15328174>
7. 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* [Internet].

- 2007 May 1 [cited 2014 Aug 19];109(9):1721–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17387718>
8. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* [Internet]. 2000 Aug 17 [cited 2014 Jul 25];406(6797):747–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10963602>
  9. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2001 Sep 11 [cited 2014 Aug 17];98(19):10869–74. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=58566&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  10. Sørlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2003 Jul 8 [cited 2014 Jul 30];100(14):8418–23. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=166244&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  11. Sotiriou C, Neo S-Y, McShane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2003 Sep 2 [cited 2014 Aug 19];100(18):10393–8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=193572&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  12. Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol* [Internet]. 2005 Oct 10 [cited 2014 Aug 19];23(29):7350–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16145060>
  13. Pegram MD, Lipton A, Hayes DF, Weber BL, Baselga JM, Tripathy D, et al. Phase II study of receptor-enhanced chemosensitivity using recombinant humanized anti-p185HER2/neu monoclonal antibody plus cisplatin in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer refractory to chemotherapy treatment. *J Clin Oncol* [Internet]. 1998 Aug [cited 2014 Aug 20];16(8):2659–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9704716>
  14. Luo X, Shi Y., Li Z., Jiang WQ. Expression and clinical significance of androgen receptor in triple negative breast cancer. Department of Medical

- Oncology, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou, Guangdong 510060, P.R. China, 585-90. 2010.
15. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2007 Apr 15 [cited 2014 Aug 19];13(8):2329–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17438091>
  16. Morris GJ, Naidu S, Topham AK, Guiles F, Xu Y, McCue P, et al. Differences in breast carcinoma characteristics in newly diagnosed African-American and Caucasian patients: a single-institution compilation compared with the National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Cancer* [Internet]. 2007 Aug 15 [cited 2014 Aug 19];110(4):876–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17620276>
  17. Haffty BG, Yang Q, Reiss M, Kearney T, Higgins SA, Weidhaas J, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* [Internet]. 2006 Dec 20 [cited 2014 Aug 19];24(36):5652–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17116942>
  18. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2007 Aug 1 [cited 2014 Jul 30];13(15 Pt 1):4429–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17671126>
  19. Burstein HJ, Elias AD, Rugo HS, Cobleigh MA, Wolff AC, Eisenberg PD, et al. Phase II study of sunitinib malate, an oral multitargeted tyrosine kinase inhibitor, in patients with metastatic breast cancer previously treated with an anthracycline and a taxane. *J Clin Oncol* [Internet]. 2008 Apr 10 [cited 2014 Aug 20];26(11):1810–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18347007>
  20. Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, Broeks A, van Leeuwen FE, Wesseling J, et al. Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Med* [Internet]. 2010 May [cited 2014 Aug 19];7(5):e1000279. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2876119&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  21. Finn RS, Dering J, Ginther C, Wilson CA, Glaspy P, Tchekmedyian N, et al. Dasatinib, an orally active small molecule inhibitor of both the src and abl kinases, selectively inhibits growth of basal-type/"triple-negative" breast cancer

- cell lines growing in vitro. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2007 Nov [cited 2014 Aug 20];105(3):319–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17268817>
22. Ellard SL, Clemons M, Gelmon KA, Norris B, Kennecke H, Chia S, et al. Randomized phase II study comparing two schedules of everolimus in patients with recurrent/metastatic breast cancer: NCIC Clinical Trials Group IND.163. *J Clin Oncol* [Internet]. 2009 Sep 20 [cited 2014 Aug 19];27(27):4536–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19687332>
  23. Peng Y. Potential prognostic tumor biomarkers in triple-negative breast carcinoma. *Beijing Da Xue Xue Bao* [Internet]. 2012 Oct 18 [cited 2014 Aug 19];44(5):666–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23073572>
  24. Rakha EA, El-Rehim DA, Paish C, Green AR, Lee AHS, Robertson JF, et al. Basal phenotype identifies a poor prognostic subgroup of breast cancer of clinical importance. *Eur J Cancer* [Internet]. 2006 Dec [cited 2014 Aug 19];42(18):3149–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17055256>
  25. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AHS, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer* [Internet]. 2007 Jan 1 [cited 2014 Aug 19];109(1):25–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17146782>
  26. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol* [Internet]. 1998 Feb [cited 2014 Aug 20];11(2):155–68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9504686>
  27. Kashiwagi S, Yashiro M, Takashima T, Nomura S, Noda S, Kawajiri H, et al. Significance of E-cadherin expression in triple-negative breast cancer. *Br J Cancer* [Internet]. 2010 Jul 13 [cited 2014 Aug 20];103(2):249–55. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2906732&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  28. Dimitrakakis C, Bondy C. Androgens and the breast. *Breast Cancer Res* [Internet]. 2009 Jan [cited 2014 Aug 19];11(5):212. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2790857&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

29. Gucalp A, Traina TA. Triple-negative breast cancer: role of the androgen receptor. *Cancer J* [Internet]. [cited 2014 Aug 19];16(1):62–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20164692>
30. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest* [Internet]. 2011 Jul [cited 2014 Jul 15];121(7):2750–67. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3127435&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
31. Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2002 Jun [cited 2014 Aug 20];2(6):442–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12189386>
32. Hankinson SE, Willett WC, Manson JE, Colditz GA, Hunter DJ, Spiegelman D, et al. Plasma sex steroid hormone levels and risk of breast cancer in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 1998 Sep 2 [cited 2014 Aug 20];90(17):1292–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9731736>
33. Doane AS, Danso M, Lal P, Donaton M, Zhang L, Hudis C, et al. An estrogen receptor-negative breast cancer subset characterized by a hormonally regulated transcriptional program and response to androgen. *Oncogene* [Internet]. 2006 Jun 29 [cited 2014 Aug 19];25(28):3994–4008. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16491124>
34. Agoff SN, Swanson PE, Linden H, Hawes SE, Lawton TJ. Androgen receptor expression in estrogen receptor-negative breast cancer. Immunohistochemical, clinical, and prognostic associations. *Am J Clin Pathol* [Internet]. 2003 Nov [cited 2014 Aug 20];120(5):725–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14608899>
35. Gonzalez-Angulo AM, Stemke-Hale K, Palla SL, Carey M, Agarwal R, Meric-Berstam F, et al. Androgen receptor levels and association with PIK3CA mutations and prognosis in breast cancer. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2009 Apr 1 [cited 2014 Aug 19];15(7):2472–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19276248>
36. Tang D, Xu S, Zhang Q, Zhao W. The expression and clinical significance of the androgen receptor and E-cadherin in triple-negative breast cancer. *Med Oncol* [Internet]. 2012 Jun [cited 2014 Aug 20];29(2):526–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21519872>

37. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA*. 2006 Jun;295(21):2492–502.
38. Wiggins RG, Woolley P V, Smythe T, Hoth D, Macdonald JS, Green L, et al. Phase-II trial of tamoxifen in advanced breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* [Internet]. 1979 Jan [cited 2014 Aug 23];3(1):45–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/535127>
39. Peters AA, Buchanan G, Ricciardelli C, Bianco-Miotto T, Centenera MM, Harris JM, et al. Androgen receptor inhibits estrogen receptor-alpha activity and is prognostic in breast cancer. *Cancer Res* [Internet]. 2009 Aug 1 [cited 2014 Aug 19];69(15):6131–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19638585>
40. Loibl S, Müller BM, von Minckwitz G, Schwabe M, Roller M, Darb-Esfahani S, et al. Androgen receptor expression in primary breast cancer and its predictive and prognostic value in patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2011 Nov [cited 2014 Aug 19];130(2):477–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21837479>
41. Zeleniuch-Jacquotte A, Afanasyeva Y, Kaaks R, Rinaldi S, Scarmo S, Liu M, et al. Premenopausal serum androgens and breast cancer risk: a nested case-control study. *Breast Cancer Res* [Internet]. 2012 Jan [cited 2014 Aug 19];14(1):R32. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3496150&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
42. Tsutsumi Y. Apocrine carcinoma as triple-negative breast cancer: novel definition of apocrine-type carcinoma as estrogen/progesterone receptor-negative and androgen receptor-positive invasive ductal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* [Internet]. 2012 May [cited 2014 Aug 19];42(5):375–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22450930>
43. Gucalp A, Tolaney S, Isakoff SJ, Ingle JN, Liu MC, Carey LA, et al. Phase II trial of bicalutamide in patients with androgen receptor-positive, estrogen receptor-negative metastatic Breast Cancer. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2013 Oct 1 [cited 2014 Aug 20];19(19):5505–12. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4086643&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
44. Park S, Koo JS, Kim MS, Park HS, Lee JS, Kim SI, et al. Androgen receptor expression is significantly associated with better outcomes in estrogen



- receptor-positive breast cancers. *Ann Oncol* [Internet]. 2011 Aug [cited 2014 Aug 19];22(8):1755–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21310761>
45. Safarpour D, Pakneshan S, Tavassoli FA. Androgen receptor (AR) expression in 400 breast carcinomas: is routine AR assessment justified? *Am J Cancer Res* [Internet]. 2014 Jan [cited 2014 Aug 20];4(4):353–68. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4106653&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  46. Peters KM, Edwards SL, Nair SS, French JD, Bailey PJ, Salkield K, et al. Androgen receptor expression predicts breast cancer survival: the role of genetic and epigenetic events. *BMC Cancer* [Internet]. 2012 Jan [cited 2014 Aug 23];12:132. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3349557&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  47. Santagata S, Thakkar A, Ergonul A, Wang B, Woo T, Hu R, et al. Taxonomy of breast cancer based on normal cell phenotype predicts outcome. *J Clin Invest* [Internet]. 2014 Feb 3 [cited 2014 Aug 20];124(2):859–70. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3904619&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  48. Garay JP, Park BH. Androgen receptor as a targeted therapy for breast cancer. *Am J Cancer Res* [Internet]. 2012 Jan [cited 2014 Aug 20];2(4):434–45. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3410582&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  49. KENNEDY BJ. Fluoxymesterone therapy in advanced breast cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 1958 Oct 2 [cited 2014 Aug 20];259(14):673–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13590423>
  50. Adair FE, Herrmann JB. The Use of Testosterone Propionate in the Treatment of Advanced Carcinoma of the Breast. *Ann Surg* [Internet]. 1946 Jun [cited 2014 Aug 20];123(6):1023–35. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1803552&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  51. Ni M, Chen Y, Lim E, Wimberly H, Bailey ST, Imai Y, et al. Targeting androgen receptor in estrogen receptor-negative breast cancer. *Cancer Cell* [Internet]. 2011 Jul 12 [cited 2014 Aug 20];20(1):119–31. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3180861&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

52. Niemeier LA, Dabbs DJ, Beriwal S, Striebel JM, Bhargava R. Androgen receptor in breast cancer: expression in estrogen receptor-positive tumors and in estrogen receptor-negative tumors with apocrine differentiation. *Mod Pathol* [Internet]. 2010 Feb [cited 2014 Aug 20];23(2):205–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19898421>
53. Narita D, Raica M, Suciuc C, Cîmpean A, Anghel A. Immunohistochemical expression of androgen receptor and prostate-specific antigen in breast cancer. *Folia Histochem Cytobiol* [Internet]. 2006 Jan [cited 2014 Aug 20];44(3):165–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16977795>
54. McGhan LJ, McCullough AE, Protheroe CA, Dueck AC, Lee JJ, Nunez-Nateras R, et al. Androgen receptor-positive triple negative breast cancer: a unique breast cancer subtype. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2014 Feb [cited 2014 Aug 20];21(2):361–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24046116>
55. Hammond MEH, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer (unabridged version). *Arch Pathol Lab Med* [Internet]. 2010 Jul [cited 2014 Aug 12];134(7):e48–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20586616>
56. Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, 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 Pathol Lab Med* [Internet]. 2014 Feb [cited 2014 Aug 20];138(2):241–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19548375>
57. Wolff AC, Hammond MEH, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* [Internet]. 2007 Jan 1 [cited 2014 Aug 20];25(1):118–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17159189>

**Table 1** - Clinicopathological characteristics of the triple negative series studied

Variable	AR(+) (n = 16) 26%	AR(-) (n = 46) 74%	Total (n = 62)	Test and p-value
Age, years	n = 15	n = 38	n = 53	Mann-Whitney p = 0.198
<b>Age, years- Mean (range)</b>	58.8 (41-78)	54.1 (26-82)	55.4 (26-82)	
	<b>Histological type</b>			
<b>Ductal Carcinoma Invasive</b>	14 (93%)	38 (93%)	52 (93%)	FET p = 0.724
<b>Lobular Carcinoma Invasive</b>	0	1 (2%)	1 (2%)	
<b>Atypical Medullary Carcinoma</b>	0	1 (2%)	1 (2%)	
<b>Metaplastic Carcinoma</b>	0	1 (2%)	1 (2%)	
<b>Mixed Invasive Carcinoma</b>	1 (7%)	0	1 (2%)	
<b>NA</b>	1	5	6	
	<b>Histological Grade</b>			
<b>1</b>	2 (13%)	1 (3%)	3 (6%)	FET p = 0.398
<b>2</b>	4 (27%)	10 (28%)	14 (28%)	
<b>3</b>	9 (60%)	24 (69%)	33 (66%)	
<b>NA</b>	1	11	12	
	<b>Tumor Size</b>			
<b>Less than 2 cm</b>	3 (23%)	9 (24%)	12 (23%)	FET p = 1.000
<b>2 – 4.9 cm</b>	8 (62%)	22 (58%)	30 (59%)	
<b>5 or more</b>	2 (15%)	7 (18%)	9 (18%)	
<b>NA</b>	2	4	6	
	<b>Stage</b>			
<b>I</b>	3 (25%)	7 (19%)	10 (21%)	FET p = 0.906
<b>IIA</b>	2 (17%)	10 (28%)	12 (25%)	
<b>IIB</b>	5 (42%)	13 (36%)	18 (37%)	
<b>III</b>	2 (17%)	6 (17%)	8 (17%)	
<b>NA</b>	4	10	14	
	<b>Nodal Status</b>			
<b>Negative</b>	5 (39%)	17 (45%)	22 (43%)	FEF p = 0.755
<b>Positive</b>	8 (61%)	21 (55%)	29 (57%)	
<b>NA</b>	3	8	11	
<b>Follow-up time, months</b>	n = 14	n = 37	n = 51	
<b>Mean (Range)</b>	60 (3-119)	75 (2-305)	71 (2-305)	
<b>Deaths</b>	5 (36%)	17 (46%)	22 (43%)	
<b>No deaths</b>	9 (64%)	20 (54%)	29 (57%)	

NA- Not available. FET: Fisher's exact test.

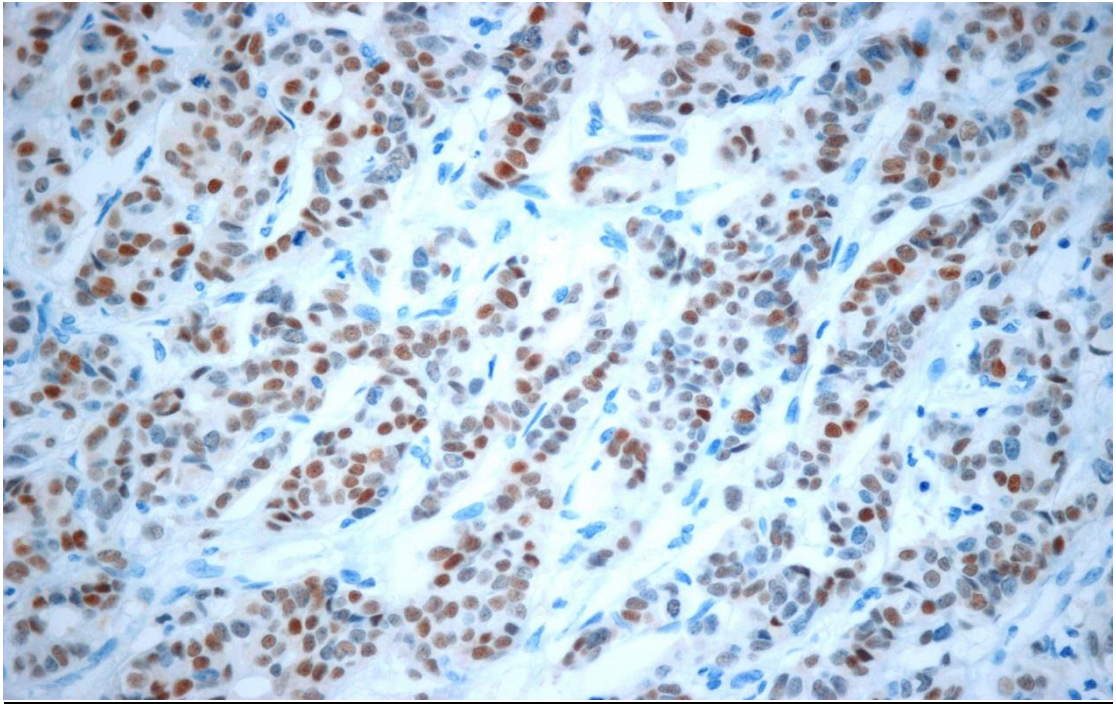
**Table 2** - AR intensity, percentage of staining and H scores in 62 triple-negative invasive breast tumors

		<b>AR(+) tumors (n = 16) (26%)</b>	<b>All tumors (n = 62)</b>
<b>AR- intensity</b>			
	0	0	46 (74%)
	1	7 (44%)	7 (11%)
	2	3 (19%)	3 (5%)
	3	6 (37%)	6 (10%)
<b>AR- percentage of staining</b>			
	0	0	46 (74%)
	2	7 (44%)	7 (11%)
	3	4 (25%)	4 (7%)
	4	1 (6%)	1 (2%)
	5	4 (25%)	4 (7%)
<b>H score</b>			
	0	0	46 (74%)
	3	5 (31%)	5 (8%)
	4	2 (13%)	2 (3%)
	5	4 (25%)	4 (7%)
	6	1 (6%)	1(2%)
	8	4 (25%)	4 (7%)

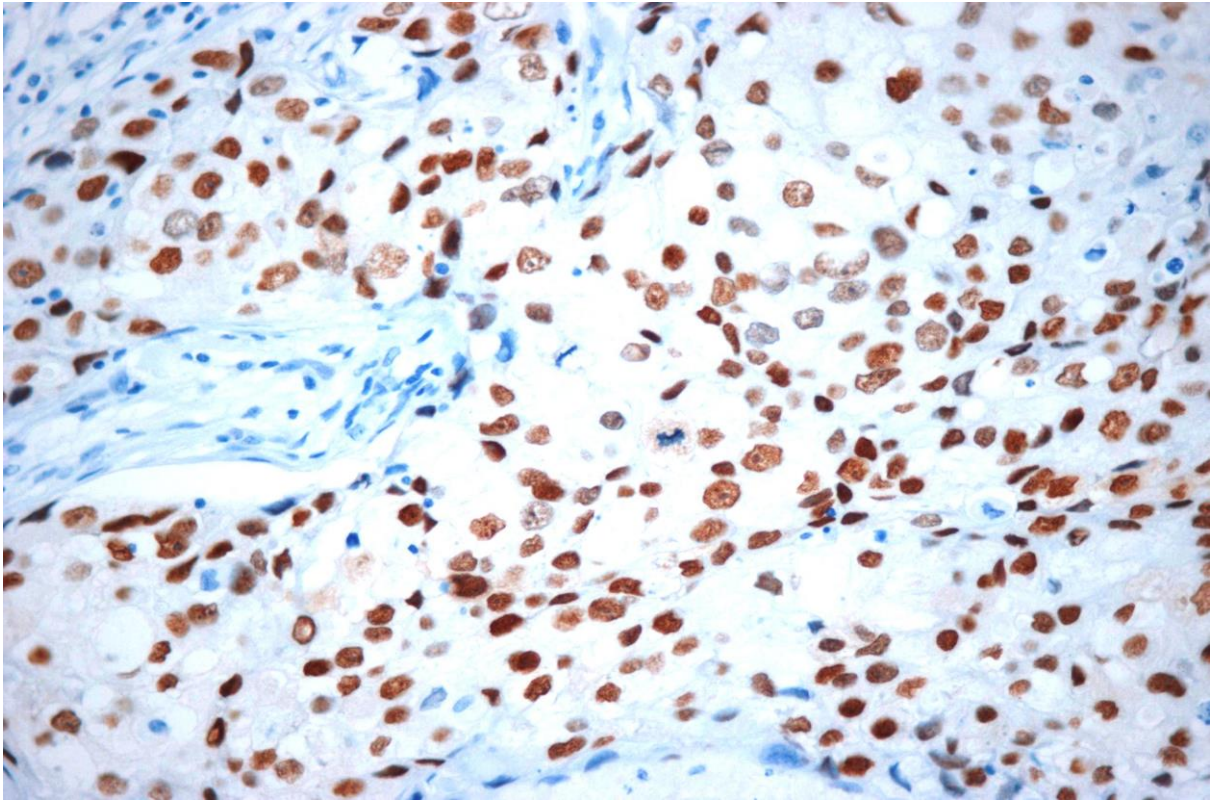
Intensity: 1+ weak, 2++ moderate, 3+++ intense.

Percentage of staining: 1 (< 1% of the cells); 2(1- 9.9%); 3(10- 29.9%); 4(30- 69.9%); 5(≥ 70%).

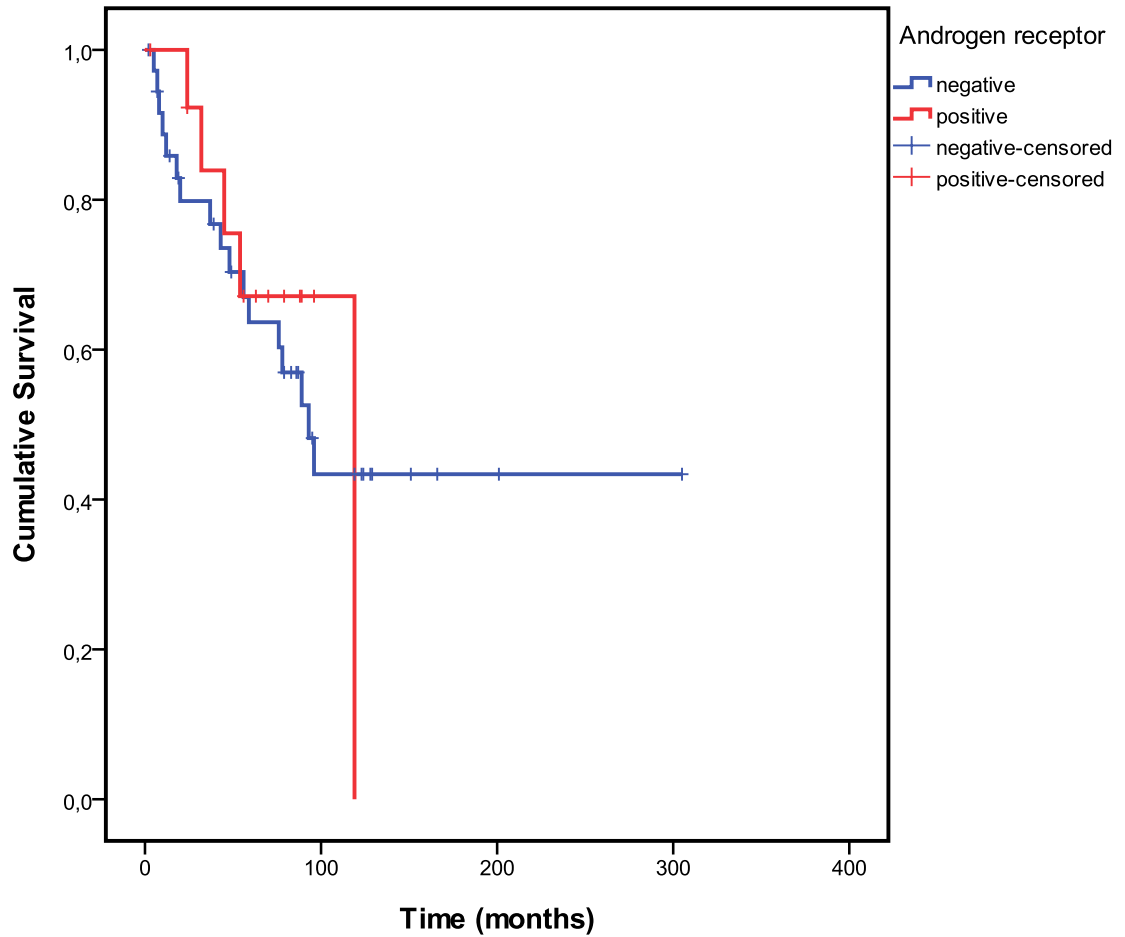
H score: intensity score plus percentage score.



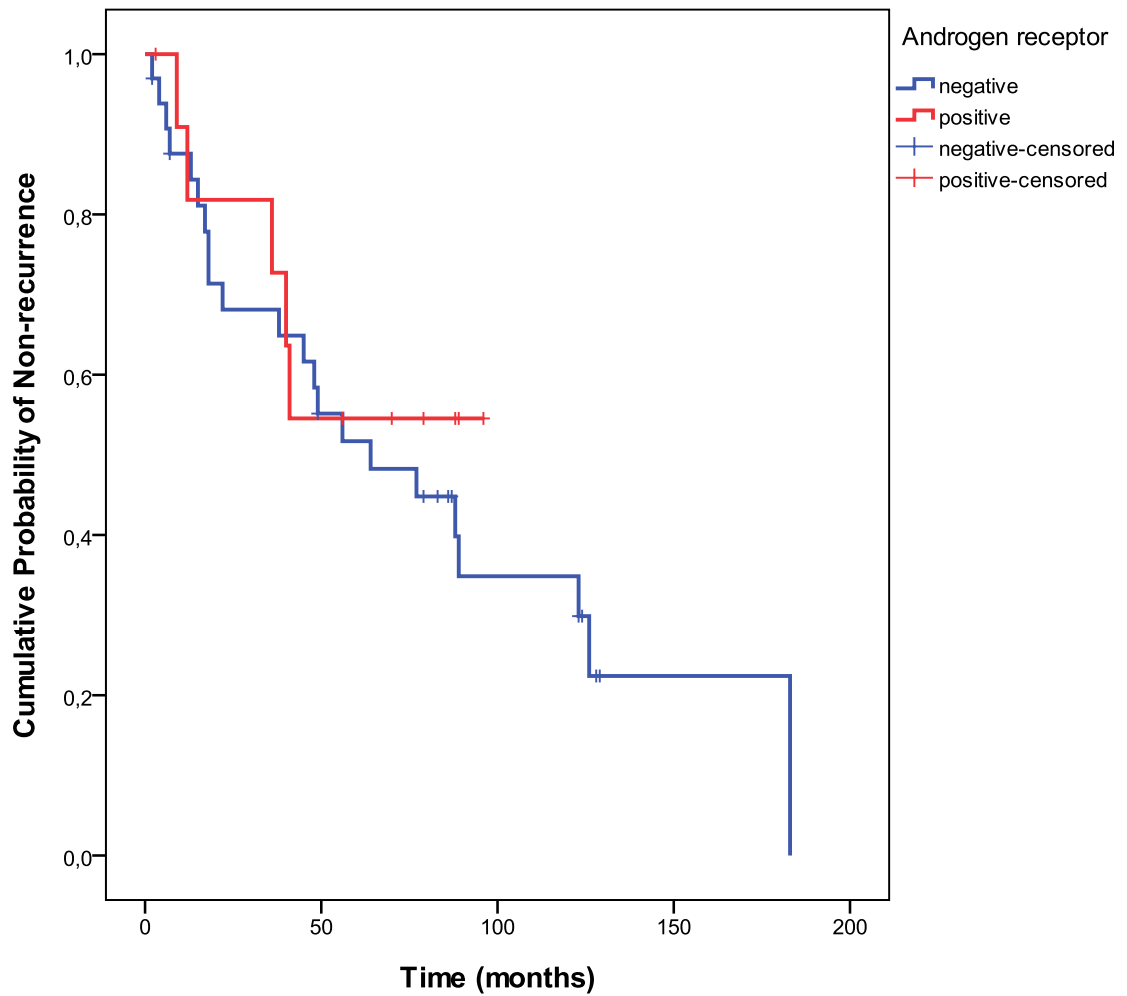
**Figure 1** - Immunostaining of a positive androgen receptor expression in a triple-negative breast tumor: H- Score 8 (staining intensity score 3 + percentage score = 5) sample (400 x).



**Figure 2** - Immunostaining of a positive androgen receptor expression in a triple-negative breast tumor: H-Score 8 (staining intensity score 3 + percentage score = 5) sample (400 x).



**Figure 3** - Kaplan-Meier survival curves according to AR expression [p = 0.737; AR(+): n = 14, Ar(-): n = 37]



**Figure 4** - Kaplan-Meier disease-free survival curves according to AR expression [ $p = 0.552$ ; AR(+):  $n = 12$ , AR(-):  $n = 33$ ].



## 8 ANEXO

## 8.1 FICHA DE COLETA DE DADOS

Nome:			
Prontuário:		Nº na pesq.:	Data Nasc:
Telefone:			
Contato:	Data:	Encontrada: Não ( ) Sim ( )	
Contato Telefônico:	Recidiva: Sim, Local ( ) A distância ( ) Não ( )		
	Morte: Não ( ) Sim ( ) Outra causa ( )		
cTNM:		Data:	não consta ( )
Procedimento:	Data:		
	Qual:	Biópsia ( )	Cirurgia ( ) Mastectomia ( ) Setorectomia ( )
	Tipo Histológico:		
	Grau histológico:	I ( )	II ( ) III ( )
	Necrose:	Sim ( ) Não ( )	
	Linfonodos:	Retirados ( )	Acometidos ( )
	Infiltração Linfocítica:	Nenhuma ( ) Moderada ( )	Pouca ( ) Intensa ( )
pTNM:		Data:	não consta ( )
IHQ:	p53:	Ki67:	
Tratamento:	Quimio NeoAdj ( ) Quimio Adj ( ) Radio ( ) Cirurgia ( )		
Recidiva Pront:	Não ( ) Se Sim, Local ( ) A distância ( )		
Morte Pront:	Morte: Não ( ) Sim ( ) Outra causa ( )		



