

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

ANÁLISE DO GRAU HISTOLÓGICO E MARCADORES
IMUNOHISTOQUÍMICOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE
PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA LUMINAL DE ALTO
RISCO

Felipe Andrés Cordero Da Luz

Uberlândia

Junho -2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

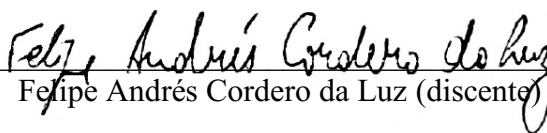
Instituto de Ciências Biomédicas

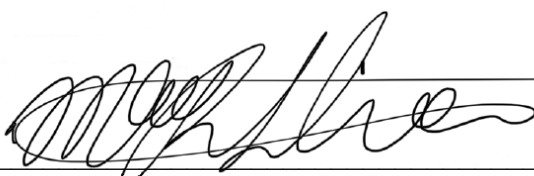
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

ANÁLISE DO GRAU HISTOLÓGICO E MARCADORES
IMUNOHISTOQUÍMICOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE
PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA LUMINAL DE ALTO
RISCO

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial a obtenção do título de Doutor.

Área de concentração: Imunologia e Parasitologia Aplicadas


Felipe Andrés Cordero da Luz (discente)



Prof. Dr. Marcelo José Barbosa Silva – UFU (orientador)

Uberlândia

Junho -2022

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

L979 Luz, Felipe Andres Cordero da, 1993-
2022 ANÁLISE DO GRAU HISTOLÓGICO E MARCADORES
IMUNOHISTOQUÍMICOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE PACIENTES COM
CÂNCER DE MAMA LUMINAL DE ALTO RISCO [recurso
eletrônico] / Felipe Andres Cordero da Luz. - 2022.

Orientador: Marcelo José Barbosa Silva.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2022.272>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Imunologia. I. Silva, Marcelo José Barbosa, 1976-,
(Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-
graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. III.
Título.

CDU: 612.017

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia
 Aplicada

Av. Amazonas, s/n, Bloco 4C, Sala 4C218 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
 Telefone: (34) 3225-8672 - www.imunoparasito.ufu.br - coipa@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Imunologia e Parasitologia Aplicadas				
Defesa de:	Tese de Doutorado nº 145				
Data:	06/06/2022	Hora de início:	13:30	Hora de encerramento:	17:45
Matrícula do Discente:	11923IPA011				
Nome do Discente:	Felipe Andrés Cordero da Luz				
Título do Trabalho:	Avaliação do uso combinatório de fatores clinicopatológicos e moleculares para identificação de pacientes com câncer de mama luminal com prognóstico semelhante ao triplo-negativo				
Área de concentração:	Imunologia e Parasitologia Aplicadas				
Linha de pesquisa:	Imunobiologia dos processos alérgicos, autoimunes e tumorais				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Investigação do perfil de promotores relacionados à cancerização das células epiteliais de mama				

No dia 06/06/2022, reuniu-se, por vídeo conferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, assim composta pelo Presidente(a): Marcelo José Barbosa Silva - ICBIM/UFU (orientador do candidato), e pelos titulares: Luís Otávio de Miranda Cota - Faculdade de Odontologia/UFMG; Yara Cristina de Paiva Maia - FAMED/UFU; Thaise Gonçalves de Araújo - IBTEC/UFU e Daniella Cristina Borges - Unipam.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Prof. Dr. Marcelo José Barbosa Silva, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

APROVADO (A)

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.

Documento assinado eletronicamente por **Marcelo José Barbosa Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 06/06/2022, às 17:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luís Otávio de Miranda Cota, Usuário Externo**, em 06/06/2022, às 17:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Thaise Gonçalves de Araújo, Professor(a) do Magistério Superior**, em 06/06/2022, às 17:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Yara Cristina de Paiva Maia, Professor(a) do Magistério Superior**, em 06/06/2022, às 17:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniella Cristina Borges, Usuário Externo**, em 07/06/2022, às 15:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3646976** e o código CRC **23B00F11**.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as mulheres que, sabendo da importância da sua contribuição, colaboram para ajudar a outras.

Dedico este trabalho àquelas mulheres que, sem saberem que “se tornaram estatística”, contribuíram na construção do saber.

Dedico este trabalho a todas as mulheres brasileiras que contribuem para a pesquisa sem ganhar algo em troca.

Dedico este trabalho à minha esposa, Isabela, por ser uma dessas mulheres brasileiras que se desvive por outros.

“Pois eu sei muito bem o que tenho em mente para vocês”, diz Jeová. ‘Quero que tenham paz, não calamidade. Quero dar a vocês um futuro e uma esperança.’”

(Jeremias 29:11)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha esposa, Isabela, por aliviar minha carga em tudo quanto possível, por ter aberto mão de momentos juntos, e me dar todo o apoio emocional que precisei para me dedicar a este projeto. Te agradeço por teu amor e abnegação. Sem você, nada disto valeria a pena.

Agradeço a minha amiga Etelvina e a seu irmão, o Dr. Alex, meu psiquiatra, pelo carinho, ajuda humana e suporte em uma fase crítica da minha vida, sem a qual não conseguiria ter condição emocional para realizar este árduo trabalho. Vocês me deram a saída que precisei no momento certo.

Agradeço à minhas colegas do NUPPEEC, a meu chefe Rafael Mathias Antonioli e ao Dr. Rogério Agenor de Araújo, coordenador do NUPPEEC, por me apoiarem a realizar o Doutorado. Agradeço por serem uma equipe diferenciada, que se destaca pela colaboração uns com outros para a edificação e engrandecimento mútuos.

Agradeço aos arquivistas, especialmente ao Marcos, ao Diegue e ao Pedro, por me ajudarem a conseguir as informações necessárias das pacientes.

RESUMO

Introdução: O subtipo luminal (ER e / ou PR-positivo, HER2-negativo) contabiliza aproximadamente 70% das pacientes com câncer de mama recém-diagnosticadas. Embora seja de melhor prognóstico, cerca de 30% delas desenvolvem recidiva tardia. Identificar essas pacientes é de interesse para tratá-las corretamente e melhorar a sobrevida. **Métodos:** Quinhentos e setenta e duas (572) pacientes com carcinoma ductal invasivo não metastático (I-III) da mama com um seguimento médio de 65,35 meses (3,67 – 247,40) foram incluídas, sendo 448 casos de câncer de mama luminal e 124 casos de câncer de mama triplo-negativo. Pontos de corte ótimos para Ki-67 e expressão semiquantitativa de receptores hormonais foram estabelecidos por análise de sobrevida para fatores contínuos. A regressão de Cox tempo-dependente com o método *Stepwise Forward Wald* foi realizada para discriminar fatores independentes de prognóstico com maior poder. **Resultados:** Observou-se que pacientes com tumores de grau histológico 1/2 com alta expressão de Ki-67 (>12%) e baixa expressão semiquantitativa de receptores hormonais ($\leq 4+$) se comportaram de maneira semelhante ao carcinoma ductal invasivo de mama de grau 3 e foram agrupadas. Tais pacientes têm uma sobrevida livre de metástases à distância [HaR ajustado: 0,520 (0,238 – 1,132), $p=0,099$] e sobrevida global [HaR ajustado: 0,761 (0,374 – 1,550), $p=0,452$] semelhantes às pacientes com câncer de mama triplo-negativo, incluindo terapias nos modelos. Em associação com o tamanho do tumor e metástases em linfonodos, esta classificação melhorou a classificação de risco padrão. **Conclusão:** O índice de proliferação pela expressão de Ki-67, além da expressão semiquantitativa de receptores hormonais, discrimina de forma eficiente pacientes com câncer de mama não metastático grau 2 e grau 1 com um bom prognóstico daquelas com pior prognóstico semelhante às pacientes com câncer de mama triplo-negativo.

Palavras-chave: neoplasias da mama; receptor alfa de estrogênio; antígeno Ki-67; metástase linfática; gradação de tumores; invasividade neoplásica; metástase neoplásica; receptores de progesterona; prognóstico.

ABSTRACT

Background: The luminal subtype (ER and/or PR-positive, HER2-negative) account for approximately 70% of newly diagnosed breast cancer patients. Although is better prognosis, approximately 30% of them develop late relapse. Identifying those patients is of interest to treat them correctly and improve survival. **Methods:** Five hundred seventy-two (572) non-metastatic (I-III) invasive ductal breast carcinoma patients with a median follow-up of 65.35 months (3.67 – 247.40) were enrolled, being 448 cases of luminal breast cancer and 124 cases of triple-negative breast cancer. Optimal cutoffs for Ki-67 and semiquantitative hormone receptor expression were established by survival analysis for continuous factors. *Stepwise* Forward Wald time-dependent Cox regression were performed to discriminate independent factors with increased prognosis power. **Results:** It was observed that patients with histological grade 1/2 tumors with high Ki-67 expression (>12%) and low semiquantitative hormone receptor expression ($\leq 4+$) behaved similarly to invasive ductal breast carcinoma grade 3 and were grouped. Such patients have distant metastasis-free survival [adjusted HaR: 0.520 (0.238 – 1.132), $p=0.099$] and overall survival [adjusted HaR: 0.761 (0.374 – 1.550), $p=0.452$] similar to triple-negative breast cancer, including therapy in the models. In association with tumor size and lymph node metastases, this classification improved the standard risk classification. **Conclusion:** The proliferation index by Ki-67 expression, in addition to the semiquantitative expression of hormone receptors, efficiently discriminates patients with grade 2 and grade 1 non-metastatic breast cancer with a good prognosis from those with a worse prognosis similar to triple-negative breast cancer.

Key-words: breast neoplasms; estrogen receptor alpha; Ki-67 antigen; lymphatic metastasis; neoplasm grading; neoplasm invasiveness; neoplasm metastasis; progesterone receptors, prognosis.

LISTA DE ABERVIAÇÕES

- ADH: *atypical ductal hyperplasia* (hiperplasia ductal atípica)
- AJCC: *American Joint Committee on Cancer* (Comitê Conjunto Americano de Câncer)
- AKT: *protein kinase B* (proteína-quinase B)
- ALND: *axillary lymph node dissection* (ressecção dos linfonodos axilares)
- CCND1: gene codificante da ciclina D1 humana
- CDH1: gene codificante da E-caderina humana
- CDI: carcinoma ductal invasivo
- CDIS: carcinoma ductal *in situ*
- CCR7: *C-C chemokine receptor type 7* (receptor de quimiocina C-C tipo 7)
- cHR: expressão composta dos receptors hormonais
- CISH: *chromogenic in situ hybridization*
- CK: *cytokeratin* (citoqueratina)
- CXCL12: quimiocina ligante de motivo C-X-C 12
- CXCR4: *C-X-C chemokine receptor type 4* (receptor de quimiocina C-X-C tipo 4)
- DMFS: *distant metastasis-free survival* (sobrevida livre de metástase à distância)
- DNA: *deoxyribonucleic acid* (ácido desoxirribonucleico)
- EGF: *epidermal growth factor* (fator de crescimento epidérmico)
- EGFR: *epidermal growth factor receptor* (receptor de fator de crescimento epidérmico)
- EMT: *epithelial-to-mesenchymal transition* (transição epitélio-mesênquima)
- EMT-TF: *epithelial-to-mesenchymal transition transcription factor* (fator de transcrição de transição epitélio-mesênquima)
- ER: receptor de estrógeno (*estrogen receptor*)
- ERK: *extracellular signal-regulated kinases*
- FGF-2: *fibroblast growth factor* (fator de crescimento de fibroblasto 2)
- FGFR: *fibroblast growth factor receptor* (receptor de fator de crescimento de fibroblasto)
- FISH: *fluorescence in situ hybridization*
- G1: grau histológico bem diferenciado/baixo grau histológico
- G2: grau histológico moderadamente diferenciado/grau histológico intermediário
- G3: grau histológico mal diferenciado/alto grau histológico
- HER2, ERBB2, HER2/neu: *human epidermal receptor 2* (receptor epidérmico humano 2)
- Her2, Erbb2, Her2/neu: receptor epidérmico murino 2
- HER2, ERBB2, HER2/neu : gene codificante de HER2

Her2, Eerbb2, Her2/neu : gene codificante de HER2

HaR: *hazard ratio* (taxa de perigo)

HER2E: *HER2-enriched* (enriquecido na via HER2)

HGF: *hepatocyte growth factor* (fator de crescimento de hepatócito)

HR: receptor hormonal (*hormone receptor*)

IHQ: imunohistoquímica

JAK: janus kinase

M: metástase à distância

MAT: microambiente tumoral

MEC: matriz extra-celular

MEK: *mitogen-activated protein kinase*

MET: *mesenchymal-to-epithelial transition* (transição mesênquima-epitélio)

MKI67: marker of proliferation Ki-67 (gene codificante do Ki-67)

MMTV: *mouse mammary tumor virus* (vuris do tumor mamário murino)

N: metástase linfonodal (categórico)

NOTCH: *neurogenic locus notch homolog protein* (

OR: *odds ratio* (taxa de chances)

OS: *overall survival* (sobrevida global)

PDGF: *platelet-derived growth factor* (fator de crescimento derivado de plaqueta)

PI3K: *phosphoinositide 3-kinase* (fosfoinositídeo 3-quinase)

pN: metástase linfonodal (categórico) por análise patológica

pT: tamanho de tumor (categórico) por análise patológica

PR: receptor de progesterona (*progesterone receptor*)

QN: quádruplo-negativo

RA: receptor de andrógeno

Rankl: *mouse receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand* (ligante do receptor ativador do fator nuclear *kappa-B* de camundongo)

RAS: gene codificante de *rat sarcoma* (sarcoma de rato)

RNA: *ribonucleic acid* (ácido ribonucleico)

SEER: *Surveillance, Epidemiology, and End Results Program*

SISH: *silver in situ hybridization*

SLN: *sentinel lymph node* (linfonodo sentinela)

SLNB: *sentinel lymph node biopsy* (biópsia do linfonodo sentinela)

STAT1: *signal transducer and activator of transcription 1* (transdutor de sinal e ativador de transcrição 1)

T: tamanho de tumor (categórico)

TERT: gene codificante da transcriptase reversa da telomerase humana

TGF- β : *transforming growth factor beta* (fator de crescimento transformante beta)

TF: *transcription factor* (fator de transcrição)

TN: triplo-negativo

TP53: gene codificante da proteína p53

VEGF: *vascular endothelial growth factor* (fator de crescimento endotelial vascular)

Wnt: membro da família Wnt

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Componentes da mama feminina humana	18
Figura 2. Representação das estruturas lobulares da mama feminina humana	19
Figura 3. Processo de EMT e seu inverso (MET)	26
Figura 4. Vias que promovem o EMT	28
Figura 5. Representação dos linfonodos acometidos no câncer de mama	31
Figura 6. Fluxograma representando o racional da irradiação de volumes	40
Figura 7. Fluxograma de seleção de pacientes no estudo conforme objetivos e análises	53
Figura 8. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com o nível de expressão do Ki-67 em pacientes com câncer de mama luminal	68
Figura 9. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com o nível de expressão semiquantitativa do receptor de progesterona (PR) em pacientes com câncer de mama luminal	69
Figura 10. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com o nível de expressão semiquantitativa de ambos os receptores hormonais (HRs) em pacientes com câncer de mama luminal	70
Figura 11. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com a expressão qualitativa de receptores hormonais (HRs) em pacientes com câncer de mama luminal	71
Figura 12. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com o grau histológico em pacientes com câncer de mama luminal	72
Figura 13. Curvas de sobrevida global e específica ajustadas por análise multivariável de pacientes do SEER	79
Figura 14. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com a estratificação de risco subsequente por cHR e grau histológico	91
Figura 15. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com a posterior estratificação de risco pelo Ki-67 e expressão semiquantitativa do receptor de progesterona (PR)	92

Figura 16. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com a posterior estratificação de risco pelo Ki-67 e expressão semiquantitativa combinada dos receptores hormonais. 93

Figura 17. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com a estratificação de risco subsequente por grau histológico, Ki-67 e expressão semiquantitativa do receptor de progesterona (PR) 95

Figura 18. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com a estratificação de risco subsequente por grau histológico, Ki-67 e expressão semiquantitativa de ambos receptores hormonais (cHR) 96

Figura 19. Perfis tumorais pela análise de conjuntos de categorias. 113

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Critérios de classificação das categorias de risco segundo consenso St Gallen	42
Tabela 2. Terapêutica conforme as categorias de risco segundo consenso St Gallen	43
Tabela 3. Dados clínicos das pacientes incluídas no estudo	59
Tabela 4. Dados clínicos das pacientes incluídas nas análises posteriores	64
Tabela 5. Análise de Cox tempo-dependente univariável e multivariável de fatores associados à metástase à distância em pacientes com câncer de mama luminal	74
Tabela 6. Análise de Cox tempo-dependente univariável e multivariável de fatores associados à morte em pacientes com câncer de mama luminal	76
Tabela 7. Análises univariável e multivariáveis para sobrevida global das pacientes luminais do banco de dados SEER	78
Tabela 8. Análise de Cox tempo-dependente univariável e multivariável de fatores associados à metástase à distância em pacientes com câncer de mama.	84
Tabela 9. Análise de Cox tempo-dependente univariável e multivariável de fatores associados à morte em pacientes com câncer de mama.	87
Tabela 10. Análises univariável e multivariáveis de Cox tempo-dependente dos fatores associados com a metástase à distância em pacientes com câncer de mama na corrigido para tratamentos adjuvantes.	99
Tabela 11. Análises univariável e multivariáveis de Cox tempo-dependente dos fatores associados com a morte em pacientes com câncer de mama na corrigido para tratamentos adjuvantes.	103
Tabela 12. Análises univariável e multivariáveis de regressão logística ordinal dos fatores associados com metástase linfonodal em câncer de mama luminal	107
Tabela 13. Análises univariável e multivariáveis de regressão logística binária dos fatores associados com invasão linfovascular em câncer de mama luminal	109

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	16
Fatores epidemiológicos e de risco para o câncer de mama	16
A glândula mamária	18
Aspectos moleculares da carcinogênese da mama	20
Carcinogênese	20
Progressão do câncer de mama	22
Fatores diagnóstico e prognóstico	28
Fatores histopatológicos	28
Estadiamento e sistema TNM	30
Subtipos moleculares do câncer de mama.....	32
Estadiamento	36
Tratamento do câncer de mama	37
Tratamento locorregional	37
Tratamento sistêmico	41
Identificação de pacientes com câncer de mama luminal de alto risco	45
OBJETIVO GERAL	48
Objetivos específicos	48
METODOLOGIA.....	48
Aspectos éticos	48
Classificações e desfechos	49
Métodos de histopatologia e imunohistoquímica	49
Classificação da expressão semiquantitativa dos receptores hormonais	50
Tratamentos locorregionais e sistêmicos.....	51
CrITÉRIOS de inclusão e exclusão	52
Dados extraídos do <i>Surveillance, Epidemiology, and End Results Program</i> (SEER)	54
Análises estatísticas.....	55
RESULTADOS	58
Análise de fatores de risco em pacientes com câncer de mama luminal	58
Análises estratificadas permitem a identificação de fatores de modificação de risco	80
Identificação de pacientes com risco semelhante àquelas com tumores triplo-negativos.....	82
Fatores associados ao aumento da chance de metástase e morte em pacientes com esquema adjuvante	94
O ajuste para tratamentos não altera o valor prognóstico das classificações de risco	97
As classificações de risco se associam com fatores de agressividade	106
Identificação de perfis de agressividade tumoral	111
DISCUSSÃO	114

CONCLUSÃO.....	122
REFERÊNCIAS.....	123
ANEXOS.....	154

INTRODUÇÃO

Fatores epidemiológicos e de risco para o câncer de mama

O câncer de mama é o câncer mais frequentemente diagnosticado em mulheres na maior parte do mundo, contabilizando um quarto de todos os cânceres em mulheres, com uma estimativa de aproximadamente 2,3 milhões de casos novos para 2020. Ademais disso, é o câncer que mais mata mulheres em todo o mundo, contabilizando 685.000 mortes no mesmo ano de 2020 (SUNG *et al.*, 2021).

No Brasil, o câncer de mama segue o padrão mundial, sendo o mais frequentemente diagnosticado em mulheres excetuando o câncer de pele não-melanoma, e é o que mais mata mulheres (INCA, 2019b). Foram estimados 66.280 novos casos para o ano de 2020 (INCA, 2019b). A incidência é crescente com a idade, com uma taxa de 6,49/100.000 na faixa etária de 30 a 39 anos, observando-se um grande salto nas faixas etárias de 60 a 69 anos e 70 a 79 anos (51,24/100.000 e 69,75/100.000, respectivamente) (INCA, 2019a). De todos os cânceres em mulheres, o de mama causou 15,92% dos óbitos no período de 2013 a 2017, sendo 16.724 óbitos em 2017 (INCA, 2019a).

Apesar de existirem fatores de risco hereditários e genéticos, como a mutação de *BRCA1* e *BRCA2*, apenas 5 a 10% dos cânceres de mama são atribuíveis a estes tipos de fatores. A maioria dos cânceres de mama ocorre em função de acúmulo de fatores de riscos não-hereditários, sejam estes modificáveis, como hábitos de vida e uso de medicamentos hormonais, ou não-modificáveis, como idade da menarca e menopausa (SUNG *et al.*, 2021).

Dentre os fatores de risco modificáveis, o uso de hormônios exógenos, amamentação, nutrição, índice de massa corporal, paridade e atividade física são os principais. O uso de contraceptivos orais e reposição hormonal, a nuliparidade, a gravidez tardia, o consumo de álcool e o sobrepeso, principalmente obesidade, são fatores de risco. Já a paridade, a paridade não-tardia, a amamentação e a prática de atividade física são fatores de proteção contra o câncer de mama (SUNG *et al.*, 2021).

Dentre os fatores de risco não-modificáveis a janela hormonal endógena e a raça/etnia são importantes fatores de risco para o câncer de mama. Uma janela hormonal maior, isto é, quanto mais precoce a menarca e/ou mais tardia a menopausa, e a raça/etnia negra são fatores de risco para o câncer de mama, enquanto que a raça/etnia asiática é fator de proteção contra o câncer de mama, apesar das taxas aumentarem rapidamente em países asiáticos (SUNG *et al.*, 2021).

Quanto à raça/etnia, existem algumas controvérsias importantes. Apesar de se observar uma proporção maior de cânceres mais agressivos nas mulheres Afro-americanas, como maior taxa de câncer de mama triplo-negativo e maior taxa de cânceres de alto grau histológico, que estão associados com pior prognóstico (HARBECK *et al.*, 2019), os fatores socioeconômicos e sociodemográficos desempenham um importante papel. Por exemplo, a alta taxa de paridade e baixa amamentação são fatores relacionados a um maior risco de desenvolvimento de câncer de mama triplo-negativo, comportamentos observados com maior prevalência na população Afro-americana no Estados Unidos (PALMER *et al.*, 2014). Também, são inseridas num estrato socioeconômico menor (NEWMAN *et al.*, 2006), o que poderia implicar em diagnóstico tardio e menor sobrevida (HARBECK *et al.*, 2019).

Esses fatores socioeconômicos e sociodemográficos poderiam explicar as diferenças observadas pelas diversas raças/etnias. No entanto, mesmo com o ajuste por esses fatores de risco, ainda se observa maior incidência e pior prognóstico nas mulheres Afro-americanas nos Estados Unidos, e o fator de proteção de origem asiática desaparece (CHLEBOWSKI *et al.*, 2005; NEWMAN *et al.*, 2006), e o pior prognóstico poderia ser atribuído à própria biologia do câncer nessas mulheres, nas quais um câncer inicial tem maior chance de causar óbito que em mulheres brancas (IQBAL *et al.*, 2015). Por outro lado, a incidência de câncer de mama na Inglaterra é menor em mulheres negras e do sul asiático, comparado com as mulheres brancas. Porém, essa diferença desaparece quando se consideram os fatores de risco conhecidos, o que demonstra que fatores comportamentais e culturais próprios das raças/etnias são os fatores preponderantes e não a raça/etnia em si (GATHANI *et al.*, 2014).

As diferenças raciais/étnicas no Brasil também implicam em diferenças na biologia do câncer de mama, que demonstram alto contraste a nível macrorregional, com maior taxa de câncer de mama luminal nas regiões Sul e Sudeste, que possui maior ancestralidade europeia, e câncer mais agressivo (triplo-negativo e HER2⁺ - receptor epidérmico humano 2) nas regiões Norte e Nordeste (CARVALHO *et al.*, 2014). No entanto, no Brasil o maior problema para a sobrevida no câncer de mama é o diagnóstico precoce. Apesar de se observar uma incidência menor em comparação a países desenvolvidos, se observa uma maior prevalência de câncer de mama em estágio avançado comparado com esses mesmos países (DOS-SANTOS-SILVA *et al.*, 2019).

A raça/etnia e fatores sociodemográficos são observados como preponderantes no diagnóstico precoce do câncer de mama no Brasil, que há maior prevalência de câncer de mama avançado nas mulheres negras e pardas com baixo nível educacional, e menor em mulheres brancas com alto nível educacional (DOS-SANTOS-SILVA *et al.*, 2019). A nível

microrregional, outros fatores de risco prevalecem, principalmente socioeconômicos. Por exemplo, no estado de São Paulo a mortalidade por câncer de mama se associa com positivamente com nuliparidade e negativamente com acesso/realização de mamografia e contrato de planos médicos (DINIZ *et al.*, 2017).

A glândula mamária

A glândula mamária feminina é um órgão acessório tubulolobular bilateral vital para a reprodução. É uma glândula exócrina, do tipo apócrina, responsável pela produção do leite. Desenvolvida em meio a um estroma predominantemente adiposo, a glândula mamária é formada por ductos ramificantes, que servem para escoar o leite, e unidades secretórias lobulares terminais, que consistem em alvéolos produtores de leite. Os ductos são circundados por células mioepiteliais que ajudam na contração e escoamento do leite, e vão se ampliando para formar o sino lactífero, o qual desemboca no mamilo como duto coletor, que promovem o escoamento do leite mediante estímulo da sucção (Figura 1) (RUSSO; RUSSO, 2004).

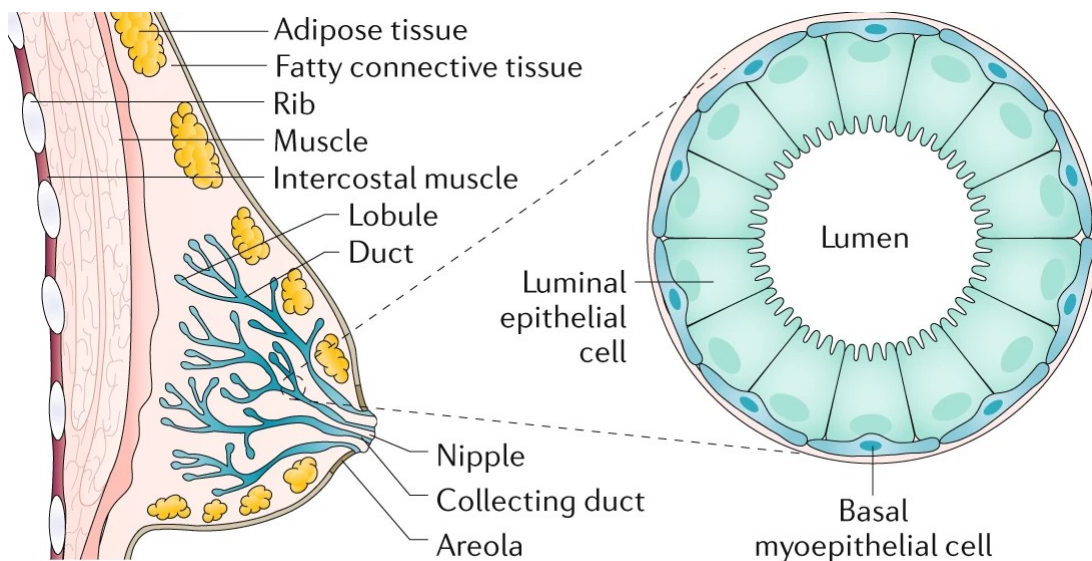


Figura 1. Componentes da mama feminina humana. A mama é formada pela glândula mamária, uma estrutura ductolobular que desemboca no mamilo pelos ductos coletores, tecido adiposo e tecido conjuntivo. Na ampliação, uma visão transversal do ducto mamário, que é formado pelas células epiteliais luminiais revestidas das células basais mioepiteliais. Retirado de (HARBECK *et al.*, 2019).

A glândula mamária sofre mudanças drásticas durante várias fases da vida da mulher (RUSSO; RUSSO, 2004), que podem ser divididas em pré-hormonais, incluindo a fase pré-natal e pós-natal, peri-hormonais, incluindo na gestação e lactação, e pós-menopausa (TURASHVILI *et al.*, 2006). A estrutura básica da glândula mamária são os ductos, lóbulos e o botão terminal

(TEB) (em animais) ou unidade ductolobular terminal (em humanos), os quais se ramificam e formam ductos e lóbulos (Figura 2). Os lóbulos vão se desenvolvendo após 1-2 anos da menarca, e sua diferenciação final e consolidação acontecem apenas após a gravidez. São quatro tipos de lóbulos, onde o tipo 1 é uma estrutura rudimentar e pouco diferenciada, e os tipos 2 e 3 são cada vez mais diferenciados. O lóbulo tipo 3 é mais abundante nas mulheres que passaram por gravidez, onde também há formação do quarto tipo de lóbulo, enquanto que nas nulíparas predominam os tipos 1 e 2. Após os 40 anos, há involução do tipo 3 nas mulheres que passaram por gravidez, com predominância dos tipos 1 e 2 (RUSSO; RUSSO, 2004).

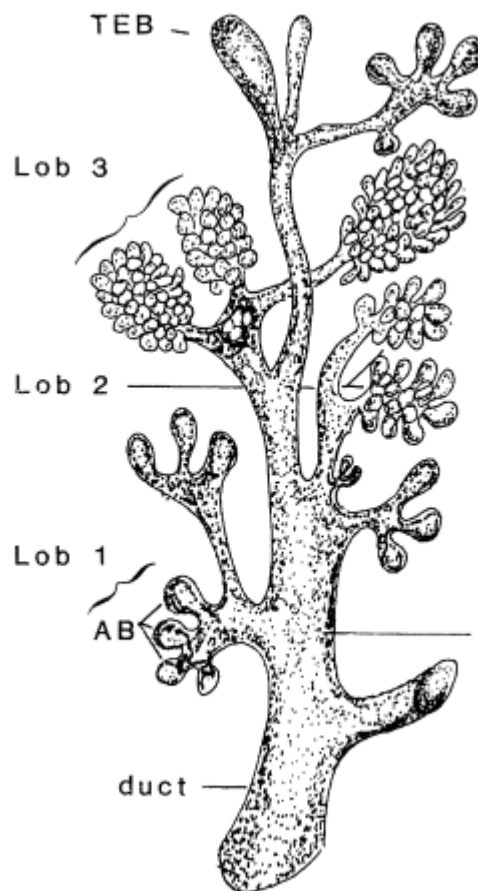


Figura 2. Representação das estruturas lobulares da mama feminina humana. O ducto se ramifica em alvéolos, que em conjunto formam os lóbulos. De acordo com o grau de desenvolvimento da mama, há predominância de alguns tipos de lóbulos. O ducto termina no botão terminal, ou unidade ductolobular terminal em humanos, o qual é responsável pelo prolongamento do ducto. Apenas os lóbulos tipo 1 a 3 estão representados. Retirado de (RUSSO; RUSSO, 2004).

Aspectos moleculares da carcinogênese da mama

Carcinogênese

O câncer é caracterizado pelo acúmulo de mutações somáticas em oncogenes, como de *RAS*, e genes supressores de tumor, como de *TP53*, que leva à proliferação descontrolada dessas células anormais com fenótipo maligno. Tais mutações podem ser provocadas por agentes externos ou internos, químicos ou físicos, que são chamados carcinógenos (SHENDURE; AKEY, 2015).

O processo de carcinogênese é dividido em três fases: iniciação, promoção e progressão. A iniciação consiste em mutações de genes-chave da proliferação celular, mas tal célula não consegue perpetuar essas alterações, sendo necessário agentes proliferantes (promotores) para a perpetuação dessas alterações. Isso ocorre até a eventual aquisição de mutações que a tornem auto-suficiente na proliferação, as quais progridem com mais mutações que possibilitam a aquisição das características próprias do câncer, como invasividade e migração (SIDDIQUI *et al.*, 2015). Durante a carcinogênese, a célula maligna deve ser capaz de ter uma proliferação sustentada, evadir supressores de crescimento, reprogramar seu metabolismo, resistir à morte celular, possibilitar a replicação imortal, induzir angiogênese, ativar invasão e metástase, e evadir o sistema imunológico. No entanto, outros processos estão envolvidos para atingir tais características, como a reprogramação do epigênoma independente de mutações, obter plasticidade fenotípica e alterar seu microambiente de forma a torná-lo favorável à progressão tumoral, o que pode envolver alteração do microbioma e acúmulo de células estromais senescentes, as quais secretam fatores pró-tumorais nesse microambiente. Essas dez características são conhecidas como o *hallmark* do câncer, que se derivam das interações dos circuitos intracelulares das vias de sinalização que regulam as atividades da célula maligna para favorecer sua progressão, interação com seu microambiente e evasão à resposta imunológica (HANAHAN, 2022; HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Os carcinógenos são classificados conforme sua ação no processo da carcinogênese, podendo ter ação apenas iniciadora (mutação), promotora (proliferativa) ou ambas (BOYLAND, 1985). Os agentes iniciadores promovem mutações pela alteração da estrutura do DNA, na maioria adutos, ou dano físico deste e, com a falha reparo dessas alterações, há a iniciação pela aquisição de uma mutação (HEMMINKI *et al.*, 2000). Por exemplo, espécies reativas de oxigênio (ROS) podem alterar a estrutura química da guanina para 8-hidróxiguanina (KASAI *et al.*, 1991), a qual pode sofrer uma troca de G→T ou G→A durante a replicação do DNA, levando a mutações (SUZUKI; KAMIYA, 2017). Essas substituições dependem do

próprio sistema de reparo de dano ao DNA, onde as enzimas reconhecem erroneamente a base alterada por uma outra normal, mudando assim a sequência do DNA (JENA; BANSAL, 2011). A ação dos carcinógenos varia de acordo com o tecido, isto é, o subtipo celular que agride. O DMBA (7,12-dimetilbenz [a] antraceno), um agente mutagênico, age como um agente carcinogênico completo na mama, mas apenas como iniciador no câncer de pele, necessitando da ação do promotor TPA (12-*O*-Tetradecanoilforbol-13-acetato) (ABBA *et al.*, 2016; SAMUELSON *et al.*, 2009; ZANCONATO *et al.*, 2015).

O câncer resulta do predomínio da seleção positiva sobre a seleção negativa das mutações (MARTINCORENA *et al.*, 2017). Apesar da seleção negativa possuir uma força mais fraca que a positiva (MARTINCORENA *et al.*, 2017), nenhum câncer se vale de apenas uma via celular para adquirir tais características que quebram as regras de homeostase tecidual (MARTINCORENA *et al.*, 2017). De fato, se observa uma alta prevalência de células com mutações somáticas, inclusive em oncogenes, em diversos tecidos em função do tempo, mas insuficientes para desencadear o câncer (MARTINCORENA *et al.*, 2018; MARTINCORENA *et al.*, 2015). Para tal, é preciso alterações/mutações em várias vias que favorecem o comportamento maligno. Em função da instabilidade genômica e outros processos há uma enorme aquisição de mutações, mas nem todas são relevantes para o comportamento maligno, sendo estas divididas em *drivers* e *passengers*, onde as primeiras são relevantes para a malignidade e as segundas são neutras nesse processo. De fato, 95% dos cânceres surgem pela mutação de, em média, 4 a 5 genes *drivers*, incluindo oncogenes e supressores de tumor (quase sempre por inativação bialélica) (CONSORTIUM, 2020).

O impacto que mutações causam dependem do tipo de alteração que elas promovem. Estas são classificadas em não-sinônimas, sinônimas e *frameshift*. As mutações não-sinônimas são subdivididas em *missense*, que causam alteração de um códon codificante para outro que resulta na alteração da sequência de aminoácido ou no padrão de *splicing*, ou *non-sense*, que leva à mudança do códon para um de parada, causando parada prematura e alterando drasticamente a sequência de aminoácido (CARTEGNI *et al.*, 2002). Já as mutações sinônimas são assim classificadas porque resultam na alteração para um outro códon que codifica para o mesmo aminoácido (CARTEGNI *et al.*, 2002), e são as mutações mais frequentes em genes relacionados ao câncer comparado aos outros (CHU; WEI, 2019), contabilizando por 6-8% das mutações *drivers* no câncer (SHARMA *et al.*, 2019). Essas mutações levam a alterações traducionais e co-traducionais, como taxa de tradução, estabilidade e conformação de RNA, e *splicing* alternativo, que resultariam em óbvias alterações na sequência da proteína (SHARMA *et al.*, 2019). Excetuando tais mutações, as demais alterações sinônimas podem alterar a taxa

de alongamento traducional e impactar na conformação da proteína, alterando a função da mesma (BRULE; GRAYHACK, 2017; WALSH *et al.*, 2020), que são fenômenos que promovem o câncer (BRULE; GRAYHACK, 2017). Por sua vez, as mutações *frameshift* resultam da inserção ou deleção de um ou mais nucleotídeos de DNA que levam à uma alteração da sequência de códons. Esse tipo de mutação perturba a matriz de leitura do mRNA resultante, levando à tradução de uma proteína completamente diferente do original, podendo também gerar códons de parada prematuros ou diferentes dos originais, semelhante às consequências de mutações *non-sense* (CARTEGNI *et al.*, 2002).

Ademais das mutações genéticas, várias alterações genômicas, como a perda de heterozigidade e instabilidade genômica, são marcantes no câncer (DONAHUE *et al.*, 2006). A perda de heterozigidade contribui para o desequilíbrio genético e susceptibilidade maior às mutações pela perda de um alelo cromossômico, o qual também é provocado por carcinógenos (DONAHUE *et al.*, 2006). Já a instabilidade genômica, por defeitos na segregação cromossômica, leva a aneuploidias, poliploidias e truncamento de cromossomos, favorecendo amplificação de oncogenes, causando um desequilíbrio com os genes supressores de tumor, o que também favorece a perda de heterozigidade (BAKHOUM; COMPTON, 2012). Os processos de instabilidade genômica (cromoplexia, kataegis e cromotripsis) levam a rearranjos, alta carga mutacional, duplicações, inserções e deleções que são importantes para a carcinogênese, por amplificar alguns oncogenes, inativar genes supressores de tumores, causar fusões, entre outros (CONSORTIUM, 2020).

Como supracitado, os eventos da carcinogênese são temporais. Algumas mutações, como a amplificação de *CCND1* em câncer de mama e *TERT* em câncer de próstata, têm altas chances de serem clonais, isto é, estarem presentes em todas as células do mesmo tumor, demonstrando serem fundamentais para as fases precoces da carcinogênese. Porém, com o decorrer do tempo há um aumento gradual da heterogeneidade mutacional, gerando subclones distintos dentro do mesmo tumor, sendo responsável pela progressão tumoral (CONSORTIUM, 2020).

Progressão do câncer de mama

Características histopatológicas

Como o carcinoma ductal invasivo do tipo não especial é o mais incidente e os subtipos especiais implicam em fatores prognósticos diferentes, mesmo com outras características a princípio adversas, o carcinoma ductal invasivo do tipo não especial será o foco neste subtópico.

O câncer de mama é visto como uma progressão de eventos que começa com a atipia epitelial e evolui progressivamente para hiperplasia ductal atípica (ADH), carcinoma ductal *in situ* (CDIS) e carcinoma invasivo (CDI) (BOMBONATI; SGROI, 2011). Mais detalhadamente, a ADH, que compartilha diversas alterações citogenéticas e genéticas com o CDIS de baixo grau, espontaneamente progride para CDIS de baixo grau (BOMBONATI; SGROI, 2011), o qual posteriormente progride para CDIS de grau intermediário e finalmente de alto grau (CUNHA *et al.*, 2010). Apesar de tanto a ADH como o CDIS serem os eventos prévios ao carcinoma invasivo, eles não necessariamente se desenvolvem em carcinoma invasivo (KADER *et al.*, 2018; MAKKI, 2015).

A partir do momento que as células adquirem a propriedade da invasividade, o câncer cresce dentro da mama, podendo migrar para os linfonodos e/ou sítios distantes, que é a metástase a distância (WEIGELT *et al.*, 2005). Outro fenômeno que ocorre durante a progressão tumoral é a mudança do fenótipo (subtipo) molecular (assunto prospectivamente abordado), com mudanças prognósticas conforme a conversão (KIM *et al.*, 2015; STEFANOVIC *et al.*, 2019). Esse processo é tido como o paradigma da progressão tumoral do câncer de mama. Apesar disso, a relação entre tamanho de tumor ou metástase linfonodal com a metástase a distância não é linear, sugerindo que este paradigma do processo de progressão tumoral desconsidera alguns fenômenos biológicos importantes (SOPIK; NAROD, 2018). De fato, são observados casos onde o tumor secundário se origina da disseminação precoce de células que entram em dormência e ressurgem tardiamente (AGUIRRE-GHISO, 2018; HARPER *et al.*, 2016; HOSSEINI *et al.*, 2016).

Aspectos moleculares

Apesar de alguns estudos terem demonstrado alterações epigenéticas e retratos genéticos importantes relacionados durante a progressão (GODOY-ORTIZ *et al.*, 2019; QI; XIONG, 2018), visto a dificuldade de obter amostras humanas que caracterizem com alta fidedignidade este processo, não há conhecimento suficiente sobre o “passo-a-passo” dos mecanismos moleculares da carcinogênese da mama (YE *et al.*, 2004). Assim, o uso de modelos animais ajuda na compreensão desse processo.

Visto que há maior entendimento do HER2 na progressão do câncer de mama, ele será abordado como modelo. Na prática clínica se observa que a superexpressão/amplificação de HER2 em carcinoma ductal *in situ* (CDIS) é preditivo para evolução a câncer invasivo (MILIGY *et al.*, 2019; ROSES *et al.*, 2009), e o subtipo intrínseco *HER2/neu* (gene codificante de HER2) se observa como o principal panorama nos diversos subtipos moleculares (GODOY-

ORTIZ *et al.*, 2019). De fato, há uma alta prevalência (~50%) de superexpressão/amplificação de HER2 em CDIS, mas uma queda (~15%) no carcinoma ductal invasivo (CDI), sugerindo que ele tem um importante papel na iniciação, e não na progressão, do carcinoma invasor (ALLRED *et al.*, 1992).

O modelo animal transgênico (MMTV-Her2) deste subtipo lançou luz sobre o processo da progressão. O processo da progressão é governado por um circuito PR (receptor de progesterona)/Her2 que é regulado pela densidade celular. Nas lesões precoces prevalece a expressão de PR, e não de Her2. No primeiro momento, a lesão se vale do mecanismo PR/fatores de crescimento (Rank1 - ligante do receptor ativador do fator nuclear *kappa*-B de camundongo - e Wnt4), para expansão parácrina de células-tronco, induzindo invasão e migração, bem como expressão de Her2 e disseminação. À medida que o tumor primário se estabelece, a superexpressão de Her2 se mantém estável, promovendo o crescimento tumoral, e Her2 regula negativamente a expressão de PR de forma indireta; mesmo assim, as células mantêm a capacidade de re-expressar o PR quando em baixa densidade celular, explicando por que as áreas de invasão em pacientes apresentam alta marcação de HER2 e/ou PR, enquanto que em áreas de alta densidade não há marcação de PR (HOSSEINI *et al.*, 2016).

O microambiente tumoral (MAT) desempenha um importante papel na progressão tumoral. Ele é formado por componentes não figurados da matriz extracelular (MEC) e diversos elementos figurados: células estromais (como fibroblastos e adipócitos), células do sistema imunológico (como macrófagos, linfócitos e neutrófilos), células mioepiteliais e células endoteliais. Esses elementos figurados são responsáveis pela manutenção da arquitetura e função da glândula mamária no contexto fisiológico pela relação estroma-parênquima, pela secreção de fatores com função parácrina. No entanto, no câncer há uma importante alteração, com perda de células mioepiteliais e degradação da matriz extracelular, que promove a invasão. Com a progressão, as células tumorais promovem uma mudança do perfil de diversas células estromais de anti-tumorais para pró-tumorais. Por exemplo, os fibroblastos e macrófagos secretam fatores de crescimento e citocinas, como CXCL12 (quimiocina ligante de motivo C-X-C 12), HGF (fator de crescimento de hepatócito) e VEGF (fator de crescimento endotelial vascular), que promovem crescimento e migração tumorais e angiogênese (PLACE *et al.*, 2011).

A dinâmica do MAT é drasticamente modificada com o decorrer do tempo, e sua composição pré- e pós-quimioterapia são fundamentais para ditar o sucesso da terapêutica. Por exemplo, a taxa macrófagos/linfócitos T CD8⁺ dita a resposta à quimioterapia neoadjuvante, onde a baixa taxa promove maior resposta patológica em relação à alta taxa. Ademais disso,

tais modificações podem favorecer a angiogênese e aumento do infiltrado de macrófagos, os quais, por sua vez, promovem resistência terapêutica e facilitam o extravasamento de células tumorais aos vasos linfáticos, levando à disseminação sistêmica (metástase) (MIDDLETON *et al.*, 2018).

Um evento posterior necessário para a metástase é a ativação de receptores de quimiocinas pré-existentes, normalmente expressos pelo epitélio mamário, e/ou superexpressão dos mesmos (MULLER *et al.*, 2001). Também, o EMT pode induzir a expressão de receptores de quimiocinas (PANG *et al.*, 2016). Na metástase linfonodal, os receptores CCR7 (receptor de quimiocina C-C tipo 7) e CXCR4 (receptor de quimiocina C-X-C tipo 4) contam pela maior parte do processo, enquanto que o CXCR4 é o principal para metástase a distância. Após a ativação deles, promovem polimerização de actina, formação de pseudópodes e migração amebóide, que confere a capacidade migratória e *homing*, de maneira semelhante a linfócitos (MULLER *et al.*, 2001).

O eixo estrógeno-ER α promove tanto a expressão de CXCL12 (SAUVE *et al.*, 2009) como a migração, quando em conjunto com outros fatores de crescimento (WEITZENFELD *et al.*, 2016). Em associação com o supracitado circuito HER2/PR, isso pode explicar o porquê de os cânceres de mama HR⁺/HER2⁻ metastatizarem mais para os linfonodos, seguido pelos HR⁺/HER2⁺, HR⁻/HER2⁺ e HR⁻/HER2⁻ (HE *et al.*, 2015; MATTES *et al.*, 2015). Porém, isso não se traduz imediatamente em metástase à distância, uma vez que a filogenética sugere que apenas 25% dos tumores secundários (metástases em órgãos distantes) se originam dos depósitos tumorais da metástase linfonodal (VENET; FIMERELI; ROTHE; *et al.*, 2020), o que pode explicar porque cânceres luminais tem maiores taxas de metástase linfonodal, mas menores de metástase à distância.

Ademais de mudanças do subtipo molecular com a progressão, especialmente metástase a distância, há outras importantes mudanças nas vias de sinalização que promovem sobrevivência e proliferação no sítio secundário. Por exemplo, no câncer de mama (ER α ⁻) que superexpressa EGFR, ele é fundamental para promover a proliferação e sobrevivência (ALI; WENDT, 2017; WENDT *et al.*, 2014). Ademais disso, a sinalização da via EGFR é fundamental para promover a metástase, mas, em um momento posterior à metástase, há alteração da transdução de sinal pela via MEK/ERK para JAK/STAT1, que muda sua função de pró-proliferativa para pró-apoptótica no sítio secundário. Porém, no sítio secundário há perda progressiva de EGFR (receptor de fator de crescimento epidérmico) (ALI *et al.*, 2018; ALI; WENDT, 2017) e aumento da via integrina β 3/FGFR (receptor de fator de crescimento de fibroblasto) que promove os efeitos pró-proliferativos nesse novo sítio (WENDT *et al.*, 2014).

Transição epitélio-mesênquima (EMT)

Conforme supracitado, uma característica importante na progressão tumoral é a aquisição de um fenótipo invasivo. Nesse respeito, a transição epitélio-mesênquima (EMT) apresenta um papel crucial.

A EMT é um fenômeno de reprogramação do fenótipo celular onde há perda de marcadores epitéliais e aquisição de marcadores mesenquimais, sendo os mais proeminentes E-caderina e queratinas (epitéliais), N-caderina e vimentina (mesenquimais), levando à perda de polaridade ápico-basal, reestruturação celular, alteração nas adesões celulares e modificação da matriz extracelular (DONGRE; WEINBERG, 2019). Esse fenômeno é regulado por EMT-TFs como Snail, Slug, Twist e Zeb, que reprimem os genes epitéliais e favorecem a expressão dos mesenquimais (DONGRE; WEINBERG, 2019) (Figura 1).

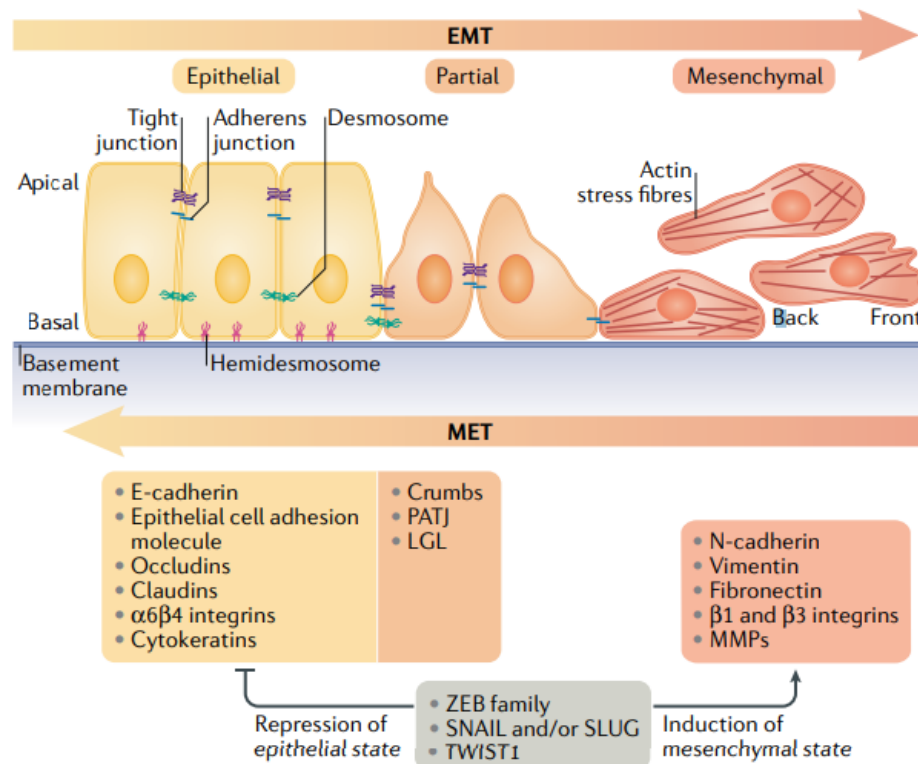


Figura 3. Processo da transição epitélio-mesênquima (EMT) e seu inverso (MET – transição mesênquima-epitélio). Na EMT, diversos fatores de transcrição promovem a repressão de genes epitéliais e/ou transcrição de genes mesenquimais, que permite a mudança para um fenótipo invasivo e migratório. Esse processo não é de tudo-ou-nada, podendo ocorrer um estado híbrido entre epitélio e mesênquima, conhecido como EMT parcial ou MET parcial. Retirado de (DONGRE; WEINBERG, 2019)

A EMT possui um papel fisiológico importante no reparo de tecidos, fibrose e durante embriogênese (DONGRE; WEINBERG, 2019). Via de regra, durante a EMT há estímulo para sobrevivência celular concomitante à parada do ciclo celular, tornando o EMT praticamente

incompatível com proliferação em células saudáveis (BROWNE *et al.*, 2010; TRAN *et al.*, 2011; VEGA *et al.*, 2004). No entanto, a proliferação persistente no contexto de EMT leva à instabilidade genômica (COMAILLS *et al.*, 2016).

A EMT tem um importante papel na progressão tumoral por induzir invasão e migração celulares (GEORGE *et al.*, 2017). Entre os EMT-TFs há uma fina regulação entre eles, sendo que Snail é responsável pela iniciação do EMT e Twist1 pela manutenção a longo prazo no câncer de mama, promovendo invasão e migração, respectivamente (TRAN *et al.*, 2011). Também, o EMT está associado com um fenótipo de células-tronco tumorais e resistência farmacológica (TSAI; YANG, 2013), e tem um papel importante na quiescência das células tumorais disseminadas (WEIDENFELD; BARKAN, 2018).

No processo da metástase, a disseminação coletiva parece ser o principal mecanismo, diferentemente do proposto sobre disseminação singular. Apesar de o EMT ser relacionado principalmente à disseminação singular (CHEUNG; EWALD, 2016), os processos de disseminação singular e coletiva são estados no espectro da EMT (JOLLY *et al.*, 2017). De fato, o processo da EMT não é necessariamente de tudo-ou-nada, mas pode ocorrer a chamada EMT parcial, onde há expressão concomitante de marcadores epiteliais e mesenquimais (KALLURI; WEINBERG, 2009) e, ao que parece, a EMT parcial possui um papel maior na metástase (GEORGE *et al.*, 2017), pois tornaria mais fácil a colonização por facilitar o retorno ao estado epitelial pelo processo inverso da transição mesênquima-epitélio (MET) (KALLURI; WEINBERG, 2009).

Também, a plasticidade da EMT (EMT parcial) parece estar mais associada às características estaminais, uma vez que EMT total elimina tais características (BEERLING *et al.*, 2016), apesar de que alguns cânceres sem características de EMT também podem ter alto grau de agressividade (GOKMEN-POLAR *et al.*, 2019). De fato, os EMT-TFs possuem papéis não-redundantes no EMT que não necessariamente se sobrepõem à estaminalidade (STEMMLER *et al.*, 2019). Assim, as vias que promovem EMT podem resultar em outros fenótipos, e podem levar à estaminalidade em alguns compartimentos celulares, mas não em outros (LIM *et al.*, 2010; YE *et al.*, 2015).

A EMT é estimulada por fatores como HGF, PDGF (fator de crescimento derivado de plaqueta), EGF (fator de crescimento epidérmico), FGF-2 (fator de crescimento de fibroblasto 2) e, o mais proeminente, TGF- β (fator de crescimento transformante beta) (DONGRE; WEINBERG, 2019) (Figura 2).

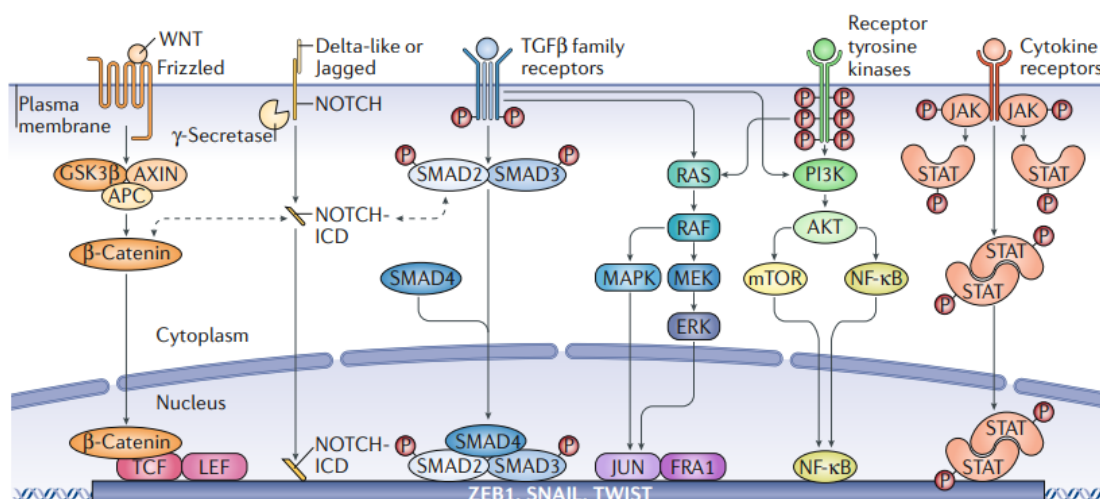


Figura 4. Vias que promovem o EMT. O EMT é uma reprogramação celular decorrente da expressão de fatores de transcrição específicos, como ZEB, SNAIL e TWIST, que são alvos de várias vias, como Wnt/ β -catenina, NOTCH, superfamília do TGF β , MEK/ERK, PI3K/AKT e JAK/STAT. Retirado de (DONGRE; WEINBERG, 2019).

No entanto, há um fator de transcrição muito envolvido nesse processo, que é o p53 (codificado pelo gene *TP53*). *TP53* é o gene mais frequentemente mutado em câncer de maneira geral, incluindo o de mama. As diversas mutações observadas, de maneira geral, estão envolvidas com a perda de interação com a sequência-alvo de DNA, impedindo sua ação transcricional, mas também pode levar a ganho de função, conferindo-lhe propriedades pró-tumorais, as quais podem agir como dominantes negativos de p53 quanto à ação transcricional (PITOLLI *et al.*, 2019). Por sua importante função na diferenciação, a mutação de p53 não raro leva à aquisição de um fenótipo de estaminalidade no câncer (LEVINE; BERGER, 2017) e promove EMT, favorecendo invasividade e metástase (TANG *et al.*, 2020).

Fatores diagnóstico e prognóstico

Fatores histopatológicos

De acordo com as características morfológicas, o carcinoma invasivo que se origina na glândula mamária é classificado como ductal (CDI) ou lobular (CLI). Os principais carcinomas são o ductal invasivo de tipo não especial, com uma incidência entre 60-80% dos casos, e o lobular clássico, com um incidência de 5-15% de todos os casos (WEIGELT *et al.*, 2010), e por si só já possuem prognósticos diferentes (MAKKI, 2015).

Outra importante análise histopatológica importante é o nível de alteração em relação ao tecido saudável, que é avaliado nos carcinomas ductais invasivos, que lhes atribui a

classificação de grau histológico baixo, intermediário ou alto conforme as alterações nucleares (anisocariose), grau de formações arquiteturais (tubulares) e índice mitótico. Esse grau histológico também implica em fator prognóstico e, quanto maior, isto é, menos diferenciado é o tumor, pior é o prognóstico (RAKHA *et al.*, 2010). Devido à pouca variação na formação arquitetural e índice mitótico no carcinoma lobular invasivo, a classificação do grau histológico é baseada nas alterações nucleares, que também atribui valor prognóstico (ADAMS *et al.*, 2009; BANE *et al.*, 2005).

Ademais dessas classificações histopatológicas, existem os carcinomas *in situ* (ductal – CDIS; lobular - CLIS) (WEIGELT *et al.*, 2010). Os carcinomas *in situ*, por não apresentarem invasividade e nem todos evoluírem para carcinoma invasivo quando não tratados (MAKKI, 2015), são classificados como pré-câncer e implicam em fator prognóstico (MAKKI, 2015) e tratamento diferente que os invasivos (GOLDHIRSCH *et al.*, 2007).

Outra classificação histopatológica é a dos carcinomas ductais e lobulares de subtipos especiais, que são assim denominados devido a formações arquiteturais peculiares, componentes da matriz extracelular diferenciados, entre outras alterações próprias. Diversos subtipos especiais foram classificados até então, e possuem fatores prognósticos diferentes comparado aos subtipos não especiais. Alguns, apesar de terem um fenótipo de grau histológico alto ou subtipo molecular triplo-negativo, possuem bom prognóstico semelhante ao de baixo grau e subtipo luminal (HAMMOND *et al.*, 2010; MAKKI, 2015; WEIGELT *et al.*, 2010). Por isso, por possuírem uma biologia particular (WEIGELT *et al.*, 2010), a classificação histopatológica por si só é o melhor fator prognóstico em muitos desses subtipos especiais (MAKKI, 2015; WEIGELT *et al.*, 2010).

Outro fator analisado histopatologicamente é a invasão dos vasos linfáticos, que é o fenômeno predecessor da metástase linfonodal, que demonstra a aquisição de um fenótipo migratório (MOHAMMED *et al.*, 2009; SHEN *et al.*, 2015). No entanto, a dificuldade de discernir histopatologicamente os vasos linfáticos dos sanguíneos, mesmo que a invasão dos vasos linfáticos seja extremamente mais frequente (MOHAMMED *et al.*, 2007), levou a cunhar o termo invasão linfovascular (MOHAMMED *et al.*, 2009; VAN DEN EYNDEN *et al.*, 2006). A correta identificação da invasão linfovascular é importante, pois implica em risco de recidiva e indicação terapêutica (GOLDHIRSCH *et al.*, 2007). Por exemplo, a presença de invasão linfovascular em pacientes sem acometimento de linfonodos é fator de pior prognóstico de maneira semelhante àquelas que tem de 1 a 3 linfonodos acometidos (EJLERTSEN *et al.*, 2009). Outro fator complicador é quanto à classificação da invasão linfovascular: nas diretrizes St Gallen (GOLDHIRSCH *et al.*, 2007) preconiza a invasão vascular extensiva como fator de

risco, enquanto que a maioria dos estudos e laboratórios relatam a invasão vascular de forma qualitativa (presente/ausente) (VAN DEN EYNDEN *et al.*, 2006). Ademais disso, há a dificuldade de relatar o que de fato são estruturas vasculares (MOHAMMED *et al.*, 2009; VAN DEN EYNDEN *et al.*, 2006). Em virtude dessas complicações, a identificação de invasão linfovascular não é rotina de muitos laboratórios (VAN DEN EYNDEN *et al.*, 2006).

Estadiamento e sistema TNM

O câncer de mama é estadiado conforme as variáveis tamanho de tumor (T), acometimento (metástase) de linfonodos regionais ipsilaterais (N) e metástase a distância (M). O órgão que delinea o estadiamento dos cânceres é o AJCC (*American Joint Committee on Cancer*). O câncer é estadiado clinicamente e patologicamente. Cada estadiamento segue parâmetros diferentes, sendo que o clínico se baseia na avaliação médica e exames de imagens, e o patológico na análise histopatológica dos espécimes após ressecção cirúrgica. Como não há uma concordância perfeita entre ambos estadiamentos, será detalhado o patológico que é de maior relevância prognóstica (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018).

No caso do câncer de mama, a variável T é dividida em quatro categorias (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018):

- T1 – tumor com até de 2 cm;
- T2 – tumor com mais de 2 cm e até 5 cm;
- T3 – tumor com mais de 5 cm;
- T4 – qualquer tamanho, invasão da pele, músculo ou parede torácica; ou ulceração e/ou nódulos satélites e/ou edema da pele; ou carcinoma inflamatório.

A linfa da mama é drenada por três sistemas (cadeias) de linfonodos ipsilaterais: axilares (nível axilar I a III), intrapleurais e mamários internos (intercostais) (Figura 5). Apesar disso, na rotina cirúrgica são removidos apenas os linfonodos axilares (SAKORAFAS *et al.*, 2000). A invasão dos linfonodos segue um fluxo contínuo nos níveis axilares com frequência decrescente de acometimento à medida que aumenta o nível axilar, com raros casos de acometimento descontínuo dos níveis (SAKORAFAS *et al.*, 2000). Visto essas características particulares da metástase linfonodal (SAKORAFAS *et al.*, 2000), e o acometimento de diversos sistemas linfáticos (SAKORAFAS *et al.*, 2000; WANG *et al.*, 2018), o estadiamento da metástase linfonodal (N) segue um critério mais complexo, que envolve quantidade de linfonodos acometidos, localização e tamanho do acometimento, levando à formação de quatro categorias de N (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018):

- N0 – sem acometimento de linfonodos ou grupos isolados de tumores menor que 0,2 mm
- N1 – presença de micrometástases (0,2 mm a 2 mm – N1mi); ou metástase em 1 a 3 linfonodos; e/ou linfonodo mamário interno clinicamente (imagens) negativo com biópsia de linfonodo sentinela positivo;
- N2 – metástase em 4 a 9 linfonodos; ou linfonodo mamário interno clinicamente (imagens) positivo na ausência de metástase axilar;
- N3 – metástase em 10 ou mais linfonodos; ou metástase em linfonodo infraclavicular (nível III); ou linfonodo mamário interno clinicamente (imagens) positivo na presença de um ou mais positivo do nível I ou II; ou metástase em 3 ou mais linfonodos axilares com micro ou macrometástase pela biópsia de linfonodo sentinela com linfonodo mamário interno clinicamente (imagens) negativo; ou metástase em linfonodo supraclavicular.

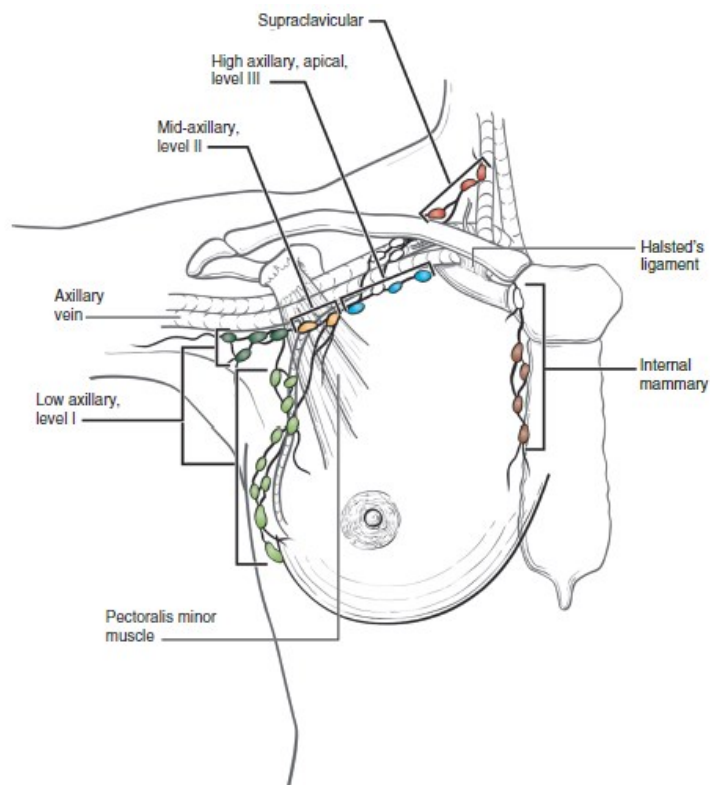


Figura 5. Representação dos linfonodos acometidos no câncer de mama. Na representação, as cadeias axilares de nível I a III, supraclaviculares e mamários internos.

A metástase a distância (M) geralmente é diagnosticada pela correlação clínica com exames de imagens, mas, em alguns casos, é possível a confirmação por biópsia. A metástase

a distância envolve também o acometimento de linfonodos contralaterais à mama acometida (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018).

Apesar de o tamanho tumoral e o envolvimento linfonodal serem altamente correlacionados, eles são fatores de prognóstico independentes (FOULKES, 2012), como se observa no caso de N3 e T4 (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018).

Subtipos moleculares do câncer de mama

Apesar do grau histológico e a morfologia conferir fator prognóstico, eles por si só não são suficientes para explicar toda a biologia do câncer de mama, nem implica em escolha terapêutica. De fato, o câncer de mama é um conjunto heterogêneo de doenças. Com base na expressão de algumas proteínas, o câncer de mama é classificado em três subtipos básicos: luminal, que é positivo para receptor de estrógeno (alfa) (ER α) ou receptor de progesterona (PR), o mais comum e com diversos testes prognósticos para pacientes tratadas com terapias hormonais; HER2/neu⁺ ou ERBB2⁺ puro, que são os que possuem superexpressão/amplificação desse receptor, mas são duplo-negativos para ER e PR; luminal híbrido, que são os que possuem superexpressão/amplificação HER2/neu⁺ ou ERBB2⁺ e são positivos para algum dos receptores hormonais; e o câncer de mama triplo-negativo (ER⁻, PR⁻ e não superexpressam HER2/neu) (CANCER GENOME ATLAS, 2012).

Historicamente, o primeiro marcador molecular de prognóstico e tratamento foi o ER α , o qual era mensurado bioquimicamente por ensaios de interação com o estradiol (HAMMOND *et al.*, 2010). Com o advento de anticorpos capazes de identificar a expressão deste receptor no tecido fixado em parafina, houve uma revolução do diagnóstico, mas, a princípio, houve uma tentativa de relacionar os índices de marcação pela imunohistoquímica (IHQ) com a atividade bioquímica do ER α , formando sistemas diferentes de classificação de acordo com quantidade e intensidade de marcação pela IHQ (HARVEY *et al.*, 1999; KINSEL *et al.*, 1989; SANNINO; SHOUSHA, 1994). No entanto, a ASCO/CAP estabeleceu que a marcação de $\geq 1\%$ das células por IHQ deve ser considerada como positiva para ER α devido ao benefício obtido com a terapia endócrina, grau este que seria considerado como bioquimicamente negativo nos protocolos anteriores (HAMMOND *et al.*, 2010). Com a identificação do PR, que atribuiu ganho prognóstico e maior resposta ao tratamento endócrino quando expresso concomitante ao ER α , sua identificação por IHQ foi estabelecida como mandatória com os mesmos parâmetros que para ER α (HAMMOND *et al.*, 2010).

Quanto ao HER2, a ASCO/CAP estabelece como superexpressão de HER2 a marcação de $>10\%$ das células tumorais pela IHQ (WOLFF *et al.*, 2013). Em casos de confirmação

duvidosa de superexpressão de HER2 pela IHQ, há a necessidade de complementação por técnicas de hibridização *in situ* (ISH) que avaliarão a amplificação genômica do gene *ERBB2* (gene codificante do HER2) para afirmar se há superexpressão ou não (WOLFF *et al.*, 2013). A correta determinação da expressão destes marcadores é crítico, visto que são utilizados como fatores prognóstico (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018) e de tratamento (GOLDHIRSCH *et al.*, 2007).

Outros marcadores por IHQ

Um outro marcador frequentemente analisado por IHQ é o Ki-67, um marcador nuclear presente em células durante a proliferação, e um índice proliferativo (alta taxa de Ki-67) está associado com pior prognóstico (DE AZAMBUJA *et al.*, 2007). Porém, como a maioria dos cânceres HER2⁺ ou triplo-negativo possuem altos índices proliferativos (DENKERT *et al.*, 2015; KURBEL *et al.*, 2017), o uso prognóstico do Ki-67 tem relevância apenas no câncer luminal (BUSTREO *et al.*, 2016; VIALE *et al.*, 2019). Dessa forma, no consenso de St. Gallen foi estabelecida uma taxa de 14% de Ki-67 como ponto de corte para classificação do câncer de mama luminal, sendo uma taxa <14% considerada como baixo índice proliferativo, classificado como Luminal A, e uma taxa ≥14% considerada como alto índice proliferativo, classificado como Luminal B (GNANT *et al.*, 2011). Porém, conforme deliberação do AJCC, não há boa reprodutibilidade e poder prognóstico entre diversos laboratórios, o que levou à sua identificação como dispensável para este painel de expertos (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018). Por isso, outros estudos sugerem a superexpressão/amplificação de HER2 como critério para classificação em Luminal A (HER2⁻) e Luminal B (HER2⁺) (FALLAHPOUR *et al.*, 2017; GOLDHIRSCH *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2019), ou o nível de expressão de PR (alto no Luminal A e baixo no Luminal B) (GOLDHIRSCH *et al.*, 2013). De qualquer forma, o subtipo luminal é o mais frequentemente diagnosticado e possui o melhor prognóstico em relação ao HER2⁺ e ainda mais em relação ao triplo-negativo (FALLAHPOUR *et al.*, 2017).

Existem outras proteínas analisadas por IHQ com finalidades distintas. Por exemplo, a análise da expressão de E-caderina pode ser útil em casos duvidosos na classificação entre ductal e lobular, uma vez que a maioria dos cânceres lobulares perdem a expressão de *CDH1* (gene que expressa E-caderina) enquanto os ductais mantém a sua expressão (MAKKI, 2015).

Outro marcador analisado é o p53. Como uma das consequências da mutação, a proteína tem uma taxa de degradação menor, levando à sua acumulação e detecção por IHQ. Sua mutação ocorre em ~40% dos cânceres de mama totais (MUKHOPADHYAY *et al.*, 2019), ocorrendo em ~80% dos HER2⁺ e TN, mas apenas em 12% e 32% dos cânceres Luminal A e

Luminal B, respectivamente (CANCER GENOME ATLAS, 2012); a mutação de p53 também se correlaciona positivamente com índice proliferativo e grau histológico elevados (JACQUEMIER *et al.*, 1994). Apesar de não haver consenso quanto seu uso prognóstico, alguns estudos mostram que a mutação causa redução da sobrevida e mais recidivas (SADIGHI *et al.*, 2017), inclusive em câncer de mama triplo-negativo (PAN *et al.*, 2017).

Subtipos intrínsecos e a heterogeneidade do câncer de mama

Com o advento de técnicas moleculares, alguns testes baseados no nível de expressão de alguns genes identificaram subtipos moleculares denominados de intrínsecos, isto é, o genótipo do tumor, como o MammaPrint (FAN *et al.*, 2006) e o PAM50 (PARKER *et al.*, 2009). Esses dois testes, especialmente o PAM50, foram pioneiros em identificar esses perfis genéticos que demonstram mais detalhadamente particularidades do câncer de mama, demonstrando um panorama mais complexo que a classificação imunohistoquímica. Por exemplo, a definição dos subtipos intrínsecos pelo PAM50, o mais utilizado, em Luminal A, Luminal B, enriquecido em HER2 (HER2E) e *basal-like* (PARKER *et al.*, 2009) provoca uma incongruência com o fenótipo do IHQ, especialmente no que diz respeito à amplificação de HER2, onde quase metade dos casos de amplificação do gene *HER2* estão fora do subtipo HER2E (GOLDHIRSCH *et al.*, 2013; KIM *et al.*, 2019; PARKER *et al.*, 2009; RAJ-KUMAR *et al.*, 2019; VIALE *et al.*, 2018).

Em vista disso, outros testes genéticos baseados em alterações genéticas *drivers* do câncer de mama promoveram a classificação em dez grupos integrativos, que na maioria são formadas por misturas de subtipos intrínsecos variados, até tão discrepantes como ER⁺ e *basal-like* (DAWSON *et al.*, 2013; PEREIRA *et al.*, 2016). Essa classificação em grupos integrativos pôde corretamente agrupar quase a totalidade dos cânceres com amplificação de *ERBB2*, apesar de não ser composto exclusivamente por esses casos (DAWSON *et al.*, 2013). Apesar disso, é observada uma importante diferença na resposta ao tratamento anti-HER2 nos casos de amplificação de acordo com o subtipo intrínseco, onde há um grande benefício no HER2E, moderado nos luminais A e B, e quase nenhum benefício no *basal-like* (GODOY-ORTIZ *et al.*, 2019).

Essas importantes diferenças nos subtipos intrínsecos se devem ao fato de que o HER2 é um evento pan-câncer, visto que a amplificação da fração de 17q leva à amplificação não só de *ERBB2*, mas também de outros genes pró-tumorais (DAEMEN; MANNING, 2018). Assim, o papel da superexpressão/amplificação de HER2 dependerá do contexto. Por exemplo, a superexpressão de HER2 aumenta o índice proliferativo (Ki-67) apenas em câncer de mama

ER⁺/PR⁺, mas não em ER⁺/PR⁻, e ainda menos em ER⁻/PR⁻ (KURBEL *et al.*, 2017). Em conformidade com isso, foi identificado que um importante mediador do papel pró-tumoral de HER2 é o receptor de andrógeno (RA). Aproximadamente metade dos cânceres de mama ER⁻ com amplificação de *ERBB2* dependem de RA, e dois terços dos cânceres HER2E dependem desta via (DAEMEN; MANNING, 2018). Concordemente, cânceres ER⁻/HER2⁺ com expressão de RA possuem um pior prognóstico que os negativos para RA (VENEMA *et al.*, 2019). Em suma, o papel de HER2 no câncer de mama depende de um contexto dependente ou de ER ou de RA, não sendo um *driver* em si mesmo.

Esse papel crucial do RA levou a diversas tentativas de acrescentá-lo no painel de marcadores de IHQ (WU; VADGAMA, 2017), pois possui papel prognóstico e possível papel terapêutico no câncer de mama de acordo com a expressão de ER e HER2, sendo que o agonismo no ER⁺ e o antagonismo no ER⁻ promovem melhor prognóstico (VENEMA *et al.*, 2019). Ademais disso, mesmo que o antagonismo de RA promova melhor prognóstico no TN que expressa este receptor, o subgrupo que expressa este receptor tem um melhor prognóstico (VENEMA *et al.*, 2019), levando ao cunhamento da expressão quádruplo-negativo (QN) (HON *et al.*, 2016).

Essas descobertas demonstraram o alto grau de heterogeneidade no câncer de mama, que inclusive se reflete no TN com um grau muito maior do que a presença ou ausência de RA. De fato, o câncer de mama triplo-negativo é um subconjunto de doenças com biologias completamente diferentes. Assim como os subtipos intrínsecos e grupos integrativos, alguns subconjuntos de TN foram identificados de acordo com um panorama semelhante de expressão e alterações gênicas em comum (LEHMANN *et al.*, 2011; LEHMANN *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2019), que reflete na expressão de alguns marcadores identificáveis por IHQ, como citoqueratinas (CK) 5/14, RA, EGFR e outros (LEHMANN *et al.*, 2011; LEHMANN *et al.*, 2016), o que acrescenta fator prognóstico ao fator intrínseco *basal-like* (GEYER *et al.*, 2017).

Apesar de todas essas evidências, a marcação de RA ou dos subtipos de TN não são utilizados para a prática clínica (HAMMOND *et al.*, 2010). Porém, no que diz respeito ao RA, testes clínicos estão sendo conduzidos para avaliar se o AR é um potencial alvo terapêutico (VENEMA *et al.*, 2019). Quanto aos subtipos de TN, esses marcadores não são utilizados na prática clínica devido a diversas divergências da sua utilidade, mas, visto que a morfologia (histopatologia) reflete muito dessa intrincada biologia, a classificação dos subtipos especiais de TN contribui como fator prognóstico relevante (GEYER *et al.*, 2017).

Estadiamento

Historicamente, o estadiamento do câncer de mama seguia o sistema TNM que deriva os estadiamentos de I (inicial) a IV (com metástase a distância), excluindo o estadiamento 0 (carcinoma *in situ*, sem acometimento de linfonodos ou metástase a distância), a saber (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018):

- IA – T1, N0, M0;
- IB - T1, N1mi, M0;
- IIA - T1, N1, M0; T2, N0, M0;
- IIB - T2, N1, M0; T3, N0; M0;
- IIIA – T3, N1, M0; T1-T3, N2, M0;
- IIIB - T4, N0-N2, M0;
- IIIC - T1-T4, N3, M0;
- IV - qualquer T, qualquer N, M1.

Pelo paradigma da progressão tumoral, quanto maior o estadiamento (T e N), maior a chance de metástase a distância (SOPIK; NAROD, 2018), e pior o prognóstico (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018).

No entanto, na atual classificação do AJCC (8ª edição), o estadiamento do câncer de mama incluiu o grau de diferenciação, a expressão qualitativa dos receptores hormonais e a superexpressão/amplificação de HER2 (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018). Via de regra, os cânceres luminais e HER2⁺, e especialmente os “triplo-positivos”, tem um melhor prognóstico, o que causou a diminuição do seu estadiamento, enquanto que a maioria dos triplo-negativos tem um pior prognóstico, o que causou o aumento do seu estadiamento, o que reflete a biologia de cada subtipo molecular. Apesar da aparente contradição no que refere ao caso da superexpressão/amplificação de HER2, que possui uma maior agressividade *per se*, o ganho prognóstico se deve ao regime (neo)adjuvante anti-HER2 (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018), que tem a capacidade de neutralizar este fenômeno, e por isso se torna mandatório no caso dessas pacientes, como será descrito posteriormente (GOLDHIRSCH *et al.*, 2007).

Em função da falta de consenso em ponto de corte e evidência científica insuficiente, o marcador Ki-67 não é utilizado no estadiamento, como supracitado (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018).

Tratamento do câncer de mama

O tratamento do câncer de mama é realizado de acordo com o estadiamento e características clinicopatológicas de cada paciente. Visto que o tratamento das pacientes metastáticas é diferente das não-metastáticas, o correto estadiamento com exames complementares, como tomografia computadorizada, é necessário naquelas com sinais clínicos (sintomatologia) ou, por apresentar maior chance de disseminação distante, com câncer localmente avançado ou de alto risco (LACROSS, 2015; MAUGHAN *et al.*, 2010).

Quanto ao tratamento das pacientes não-metastáticas, os critérios são estabelecidos no Consenso Internacional de Expertos em Saint Gallen, cujas principais diretrizes, utilizadas até hoje, foram estabelecidas nas Conferências da 10^a, 13^a e 14^a edições (COATES *et al.*, 2015; GOLDHIRSCH *et al.*, 2013; GOLDHIRSCH *et al.*, 2007), com pouquíssimas alterações nas edições posteriores (MORIGI, 2017; 2019).

Os critérios são baseados principalmente nos fatores patológicos (grau histológico, subtipo molecular, expressão semiquantitativa dos receptores hormonais) (COATES *et al.*, 2015; GOLDHIRSCH *et al.*, 2013), sem contraindicação ou limitação de tratamento pleno por qualquer condição clínica que seja, exceto em caso de comprometimento da saúde. No entanto, condições clínicas como o *status* menopausal e a idade são relevantes para o correto tratamento endócrino naquelas com expressão positiva para ER e/ou PR (COATES *et al.*, 2015; GOLDHIRSCH *et al.*, 2013). No Brasil, diretrizes semelhantes foram adotadas para o tratamento do câncer de mama (BRASIL, 29 de abril de 2019).

Tratamento locorregional

Os tratamentos locorregionais são oferecidos apenas para as pacientes não-metastáticas em função da ausência de benefício nas pacientes metastáticas (MAUGHAN *et al.*, 2010). A principal terapia locoregional é a cirurgia, que consiste na remoção do leito tumoral, bem como dos linfonodos acometidos, que são a fonte de possíveis células metastáticas (LACROSS, 2015).

A cirurgia do leito tumoral pode ser tanto a mastectomia, que consiste na remoção completa da mama, com (radical) ou sem (simples) a remoção do músculo peitoral, e a opção da abordagem depende do estadiamento clínico do tamanho tumoral (LACROSS, 2015). Apesar dos tumores localmente avançados serem manejados com a mastectomia, a terapia sistêmica pré-operatória (neoadjuvante/citorredutora), especialmente a quimioterapia, pode ser realizada com o objetivo de reduzir o volume tumoral e optar pela cirurgia conservadora, abordagem esta que não implica na redução da sobrevida (MAUGHAN *et al.*, 2010).

Visto que o principal objetivo da cirurgia do leito tumoral é a remoção do tumor com uma margem de segurança na ressecção, o tipo de abordagem não implica em impacto diferente na sobrevida das pacientes (LACROSS, 2015). Porém, a recomendação é que a constatação da margem de segurança seja feita de forma intra-operatória e para possibilitar a ampliação de margens no mesmo ato cirúrgico, mas uma reabordagem posterior será realizada se houver falha/ausência de análise intra-operatória das margens (LACROSS, 2015).

Quanto à abordagem cirúrgica dos linfonodos, quando há positividade clínica de envolvimento dos linfonodos, a opção cirúrgica é a remoção completa dos níveis axilares I e II (ALND), mas, quando há negatividade clínica de envolvimento dos linfonodos, é realizada a técnica de análise do linfonodo sentinela (SLNB). A técnica de SLNB consiste no rastreamento do(s) linfonodo(s) drenante(s) da mama no ato cirúrgico com o uso de um traçador, que geralmente se encontra(m) no nível axilar I. De forma preferivelmente intraoperatória, esses linfonodos sentinelas (SLN) devem ser analisado(s), pois o acometimento de ≥ 3 linfonodos implica na remoção dos níveis I e II na sua totalidade (ALND) (GOLDHIRSCH *et al.*, 2013; LACROSS, 2015). Porém, a ALND é dispensada quando há acometimento de < 3 linfonodos, desde que realizado o correto manejo radioterapêutico (HARRIS, 2014).

Por outro lado, nas pacientes que tiveram resposta clínica axilar total após neoadjuvância, a abordagem de SLN pode ser realizada, mas a ALND deve ser realizada se houver acometimento de algum linfonodo (COATES *et al.*, 2015). Apesar disso, devido a implicar em melhora da qualidade de vida em função da diminuição de comorbidades, o correto diagnóstico para favorecer a abordagem do SLN, é essencial na terapêutica do câncer de mama (MAUGHAN *et al.*, 2010).

Quanto ao nível axilar III, só é realizada remoção cirúrgica se houver adenopatia palpável deste nível no momento da cirurgia (LACROSS, 2015).

A radioterapia locorregional é aplicada com o principal objetivo de reduzir o risco de recidivas locorregionais (RECHT *et al.*, 2001), mas tem demonstrado diminuir o risco de recidiva a distância (metástase) e aumentar a sobrevida (HARRIS, 2014). Ela é realizada após a cirurgia e quimioterapia adjuvante, e o regime e recomendações são regulados pela ASTRO/ASCO (SMITH *et al.*, 2018). A irradiação do leito cirúrgico (parede torácica ou mama) e dos níveis axilares I e II é administrada conforme o tipo de cirurgia, margem cirúrgica, tamanho tumoral e envolvimento linfonodal (RECHT *et al.*, 2001), sem restrição de idade conforme o benefício e expectativa de vida (COATES *et al.*, 2015).

A irradiação pós-mastectomia desses campos é dispensada na ausência de fatores adversos, mas oferecida quando o tumor dissecado é T3 ou T4 e/ou houver envolvimento de ≥ 4

linfonodos (RECHT *et al.*, 2001). Quanto à irradiação pós-cirurgia conservadora, ela deve ser oferecida a todas as pacientes, e na axila apenas quando houver acometimento linfonodal (GOLDHIRSCH *et al.*, 2013). Anteriormente a irradiação pós-cirurgia conservadora era limitada apenas às pacientes com idade inferior a 50 anos, e àquelas com 50 anos ou mais se margem comprometida com impossibilidade/falta de desejo de reabordagem cirúrgica ou outras características de risco (RECHT *et al.*, 2001). Porém, a idade não é mais um limitador, visto que diminui a quantidade de recidivas e aumenta a sobrevida (COATES *et al.*, 2015; GOLDHIRSCH *et al.*, 2013). Naquelas com linfonodo(s) sentinela(s) acometido(s) cuja axilectomia foi dispensada, a irradiação axilar deve ser realizada independentemente do tipo de cirurgia da mama (COATES *et al.*, 2015). Ademais disso, a irradiação deve ser recomendada conforme o estadiamento clínico no caso das pacientes que realizaram quimioterapia neoadjuvante com resposta parcial ou total, visto o efeito protetor contra recidiva locorregional e aumento na sobrevida (WHITE; MAMOUNAS, 2014).

A irradiação da fossa supra-clavicular (nível III) é mandatória quando há um envolvimento de ≥ 4 linfonodos, mas deve ser oferecida quando há envolvimento de 1-3 linfonodos associado a outros fatores de mau prognóstico, como grau histológico alto e T3 (RECHT *et al.*, 2001). A Figura 6 representa um fluxograma da tomada de decisão na radioterapia atualmente empregada.

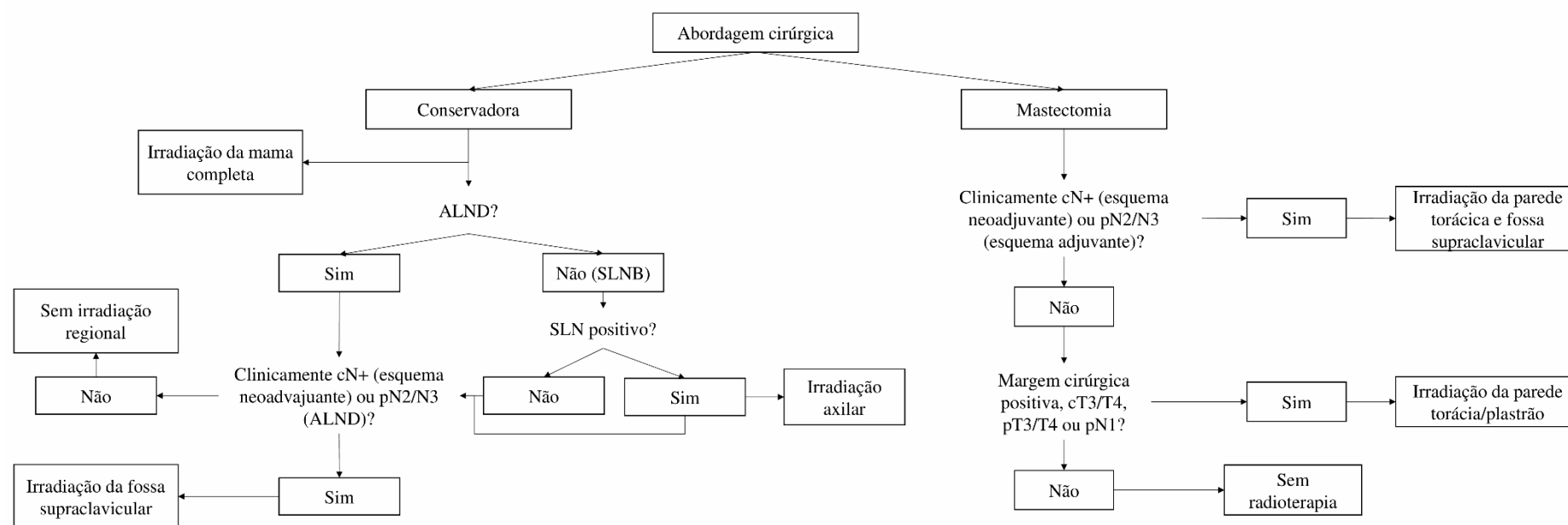


Figura 6. Fluxograma representando o racional da irradiação de volumes de acordo com as abordagens cirúrgicas e características clínico-patológicas

No caso de DCIS, fatores de risco como idade, extensão da doença, grau nuclear, presença de necrose e comprometimento da margem ditarão se será realizada irradiação local ou não (SMITH *et al.*, 2018).

Tratamento sistêmico

O tratamento sistêmico adjuvante à cirurgia tem como objetivo aumentar a sobrevida e reduzir o risco de recidivas, principalmente a distância (metástase). Consiste na administração de quimioterápicos, anticorpos monoclonais anti-HER2 (trastuzumab) e terapia endócrina (MAUGHAN *et al.*, 2010). Também é a única opção terapêutica com melhora da sobrevida livre de progressão e sobrevida global (PAGANI *et al.*, 2010).

O tratamento quimioterápico adjuvante segue as recomendações o Consenso da 10ª edição de St Gallen, que categoriza o risco de recidiva como baixo, intermediário e alto, conforme os parâmetros clinicopatológicos descritos na Tabela 1 (GOLDHIRSCH *et al.*, 2007). Porém, em edições posteriores alguns critérios foram revisados. Por exemplo, idade menor que 35 anos ou envolvimento de 1 a 3 linfonodos não é critério para uso de quimioterapia nas pacientes com câncer luminal, mas sim os demais fatores clinicopatológicos (COATES *et al.*, 2015).

A recomendação de tratamento é indicada conforme a sensibilidade endócrina, estabelecida pela expressão qualitativa dos receptores hormonais, a expressão de HER2 e outros parâmetros que determinam o grau de risco de recidiva e direcionam a terapêutica (Tabela 2). Por exemplo, o uso de anti-HER2 (trastuzumab) é indicado em todas as pacientes com superexpressão de HER2, independentemente do risco, mas pode ser omitido apenas nas mulheres de risco intermediário com tumor <1 cm (Tabela 2) (GOLDHIRSCH *et al.*, 2007). Inclusive a quimioterapia, que é recomendada quando há metástase linfonodal (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018), pode ser omitida nas pacientes luminais de risco intermediário, mas deve ser oferecido tratamento endócrino (Tabela 2) (GOLDHIRSCH *et al.*, 2007).

Tabela 1. Critérios de classificação das categorias de risco segundo consenso St Gallen. Adaptado de (GOLDHIRSCH *et al.*, 2007)

Classificação de risco	
Baixo risco	<p>Linfonodo negativo E todas as seguintes características:</p> <p>pT \leq 2 cm, E</p> <p>Grau 1, E</p> <p>Ausência de invasão vascular peritumoral extensiva, E</p> <p>Expressão de ER e/ou PR, E</p> <p>Ausência de superexpressão/amplificação de HER2/<i>ERBB2</i>, E</p> <p>Idade \geq 35 anos</p>
Risco intermediário	<p>Linfonodo negativo E pelo menos uma das seguintes características:</p> <p>pT > 2 cm, OU</p> <p>Grau 2/3, OU</p> <p>Presença de invasão vascular peritumoral extensiva, OU</p> <p>Ausência de ER e PR, OU</p> <p>Presença de superexpressão/amplificação de HER2/<i>ERBB2</i>, OU</p> <p>Idade < 35 anos</p> <p>Linfonodo positivo (1-3) E</p> <p>Expressão de ER e/ou PR, E</p> <p>Ausência de superexpressão/amplificação de HER2/<i>ERBB2</i></p>
Alto risco	<p>Linfonodo positivo (1-3) E</p> <p>Ausência de ER e PR, OU</p> <p>Presença de superexpressão/amplificação de HER2/<i>ERBB2</i></p> <p>Linfonodo positivo (\geq 4)</p>

Tabela 2. Terapêutica conforme as categorias de risco segundo consenso St Gallen. Adaptado de (LUZ *et al.*, 2022)

Subtipo molecular Metástase linfonodal	Luminal (ER⁺ e/ou PR⁺, HER2⁻)	HER2-puro (ER⁻ e PR⁻, HER2⁺)	Luminal hybrid (ER⁺ e/ou PR⁺, HER2⁺)	Triplo-negativo (ER⁻, PR⁻, e HER2⁻)
N0	Terapia endócrina	Quimioterapia + Trastuzumab*	Terapia quimioendócrina + Trastuzumab*	Quimioterapia
N1 (1-3)	Terapia quimioendócrina/endócrina	Quimioterapia + Trastuzumab	Terapia quimioendócrina + Trastuzumab	Quimioterapia
N2-N3 (≥4)	Terapia quimioendócrina	Quimioterapia + Trastuzumab	Terapia quimioendócrina + Trastuzumab	Quimioterapia

*Não obrigatório para pacientes com tumores de maior diâmetro inferior a 1 cm (T1a/b).

Como observado na Tabela 2, a quimioterapia não foi estabelecida como mandatória nas pacientes luminais no 10º consenso de St Gallen, apenas nas com ≥ 4 linfonodos acometidos (GOLDHIRSCH *et al.*, 2007), mas outros fatores patológicos são preditivos de maior risco de recidiva (GOLDHIRSCH *et al.*, 2013). Devido ao valor indicativo de quimioterapia do subtipo intrínseco Luminal B pelo advento das técnicas genéticas, houveram tentativas de reproduzir estes subtipos com técnicas de IHQ (GOLDHIRSCH *et al.*, 2013). Inicialmente, o Ki-67 foi proposto como ferramenta imunohistoquímica para discriminar esses subtipos, com 14% sendo um ponto de corte com melhor correlação com o subtipo intrínseco, apesar de 20% ser claramente um ponto de corte indicador de baixa/alta proliferação (GOLDHIRSCH *et al.*, 2013). No entanto, a falta de reprodutibilidade desse ponto de corte (14%) (COATES *et al.*, 2015) e o consenso da não intercambialidade com o grau histológico (GOLDHIRSCH *et al.*, 2013) levou à busca por outros fatores patológicos para indicação de quimioterapia nas pacientes luminais. Assim, fatores de mau prognóstico como alto grau histológico (G3), ≥ 4 linfonodos acometidos, baixa expressão de receptores hormonais, alta proliferação (Ki-67) e invasão linfovascular são indicativos do uso de quimioterapia nas pacientes luminais (COATES *et al.*, 2015).

Os quimioterápicos são geralmente administrados como um esquema adjuvante, que consiste atualmente na combinação de dois quimioterápicos de categorias diferentes, consistindo, na maioria das vezes, de uma antraciclina, como a adriamicina, e um taxano, como o paclitaxel (MAUGHAN *et al.*, 2010). Porém, outras categorias de quimioterápicos podem ser administrados, geralmente a ciclofosfamida, um agente alquilante de DNA, que é acrescentado à combinação de antraciclina e taxano (FUJII *et al.*, 2015). O princípio por trás do uso de uma combinação de quimioterápicos é a interrupção de mecanismos diferentes da proliferação e divisão celular, sendo que as antraciclinas e os alquilantes impedem a síntese de DNA por inibirem a topoisomerase ou causar ligações cruzadas no DNA, respectivamente, e os taxanos impedem o crescimento de microtúbulos, perturbando a formação do fuso mitótico (MICHAELS *et al.*, 2016).

A quimioterapia pode ser administrada como regime neoadjuvante, com o uso de anti-HER2 nas indicadas (GNANT *et al.*, 2011). Este regime de tratamento prévio à cirurgia tem como principal objetivo a redução do volume tumoral para completa ressecção tumoral e melhora estética, podendo se optar pela cirurgia conservadora quando há boa resposta (LACROSS, 2015). Porém, o nível de resposta está condicionado ao índice proliferativo e sensibilidade endócrina, onde se observa baixa ou nenhuma resposta nos carcinomas de baixo índice proliferativo (Ki-67<14%) e alta sensibilidade endócrina (GNANT *et al.*, 2011;

RESENDE *et al.*, 2019; SASANPOUR *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2016). Quanto ao impacto na sobrevida e recidiva, a administração da quimioterapia como regime neoadjuvante não implica em diferença comparado ao regime adjuvante (CHEN *et al.*, 2018; MAMOUNAS *et al.*, 2012). No entanto, a terapia neoadjuvante exerce pressão seletiva que leva à mudança de subtipo molecular (GALLI *et al.*, 2017; LIM *et al.*, 2016; PERNAS *et al.*, 2019; STEFANOVIC *et al.*, 2019), o que deveria mudar o regime de terapia (KIM *et al.*, 2015; LIM *et al.*, 2016).

A terapia endócrina é indicada à paciente cujo câncer expressa ER e/ou PR. Apesar de ser administrado em alguns casos como regime neoadjuvante, a terapia endócrina é principalmente administrada como regime adjuvante (COATES *et al.*, 2015). Os principais anti-hormônios utilizados são o tamoxifeno, que atua como um anti-estrógeno no câncer de mama, e os inibidores de aromatase (anastrozol, letrezol, exemestano), que impedem a produção de estrógeno (MAUGHAN *et al.*, 2010).

O regime e duração de terapia endócrina é recomendada conforme o *status* menopausal e fatores de risco. A terapia endócrina recomendada para as pacientes em pré-menopausa é a terapia de tamoxifeno por 5 anos, exceto nas pacientes com idade inferior a 35 anos, onde o regime é o exemestano. Já nas pós-menopausa, o regime pode ser o uso de inibidor de aromatase (IA) ou tamoxifeno, como regime único ou num esquema de troca para subsequente uso de IA, por 5 anos; o esquema dependerá de fatores de risco clínicos como osteoporose, fratura óssea, trombose, entre outros. Porém, em ambos grupos de pacientes, os regimes devem ser estendidos para 10 anos quando a paciente possui fatores adversos, linfonodo inicialmente positivo, grau histológico elevado (G3), alto índice proliferativo (Ki-67), bem como entrada na menopausa nas pré-menopausa (COATES *et al.*, 2015).

Identificação de pacientes com câncer de mama luminal de alto risco

Apesar das pacientes com câncer de mama luminal (ER α ⁺ e/ou PR⁺, HER2⁻) terem um melhor prognóstico que as pacientes triplo-negativas (JENSEN *et al.*, 2018; RIVENBARK *et al.*, 2013), aproximadamente 25-30% dessas pacientes tem recidivas tardias (>5 anos) (EARLY BREAST CANCER TRIALISTS' COLLABORATIVE, 2005; LAIBLE *et al.*, 2019; WANGCHINDA; ITHIMAKIN, 2016), principalmente à distância, com predomínio de metástase óssea (PULIDO *et al.*, 2017), o que implica em mortalidade. Dessa forma, se torna necessário a identificação de fatores prognósticos adicionais a esse grupo para identificar as pacientes que possuem maior risco de recidivas, ademais do sistema TNM.

Em vista disso, diversos testes genéticos foram desenvolvidos com o objetivo de classificar o risco de recidiva e realizar terapias mais direcionadas, como o MammaPrint (FAN

et al., 2006), o PAM50 (PARKER *et al.*, 2009), o EndoPredict, (COATES *et al.*, 2015; GYANCHANDANI *et al.*, 2016; KROP *et al.*, 2017; MARTIN *et al.*, 2014) e, especialmente, o Oncotype Dx (PAIK *et al.*, 2004; PAIK *et al.*, 2006). Este último se destaca, visto ter nível 1 de evidência para prognóstico e indicação terapêutica, isto é, poder para excluir a quimioterapia (sobretretamento), mas apenas nas pacientes com câncer luminal ER⁺/HER2⁻ (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018; VIEIRA; SCHMITT, 2018). Porém, apesar de serem testes com custo-efetividade positiva ao considerar o ganho em qualidade de vida (BACCHI *et al.*, 2010; CHANDLER *et al.*, 2018; OZMEN *et al.*, 2019; YANG *et al.*, 2012), o alto custo desses testes inviabiliza seu acesso para a grande maioria das pacientes, principalmente em países de renda média-baixa (BACCHI *et al.*, 2010; OZMEN *et al.*, 2019). Em vista disso, é importante o uso de sistemas mais acessíveis de classificação de risco.

No entanto, os fatores usualmente avaliados na rotina patológica para o diagnóstico de pacientes com câncer de mama apresentam boa correlação com tais testes genômicos (BASKOTA *et al.*, 2021; BHARGAVA *et al.*, 2020; EATON *et al.*, 2017; KIM *et al.*, 2016; ORUCEVIC *et al.*, 2019; SLEMBROUCK *et al.*, 2021), o que impulsionou inclusive o desenvolvimento de algoritmos matemáticos com um excelente índice preditivo referente ao *Recurrence Score* (RS) (BHARGAVA *et al.*, 2020; BHARGAVA *et al.*, 2019; FLANAGAN *et al.*, 2008; TURNER *et al.*, 2015). De forma parecida, mas sem intenção preditiva para resultados dos testes genômicos, um modelo matemático utilizando a expressão de HER2, porcentagem de Ki-67 e expressão semiquantitativa (H-score) dos receptores hormonais, denominado de IHC4, se mostrou uma ferramenta importante para prognóstico de metástases a distância (CUZICK *et al.*, 2011), equiparável ao RS do Oncotype Dx, apesar de apenas para as precoces (até 5 anos) (DOWSETT *et al.*, 2013; SESTAK *et al.*, 2018; SGROI *et al.*, 2013). Ademais disso, diversos estudos observaram que a expressão de apenas um receptor hormonal, seja ER ou PR, é um fator de mau prognóstico (BAE *et al.*, 2015; ETHIER *et al.*, 2018; NG *et al.*, 2014).

Apesar de uma segregação melhor que apenas o Ki-67, esses dois estudos supracitados enfrentam algumas limitações. Por exemplo, no estudo do IHC4 foi observada perda prognóstica do Ki-67 na análise multivariável em função da alta correlação (co-linearidade) com o grau histológico (CUZICK *et al.*, 2011), sugerindo que há uma hierarquia desses fatores prognósticos, com o grau histológico acima do Ki-67. Apesar dessa correlação positiva entre Ki-67 e grau histológico (INWALD *et al.*, 2013), o índice proliferativo é apenas um dos fatores avaliados na classificação do grau histológico (RAKHA *et al.*, 2010). Mesmo que o câncer Luminal A é predominantemente G1/G2 e o Luminal B predominantemente G2/G3 (EHINGER

et al., 2017), o câncer Luminal A de alto grau histológico (G3) possui um pior prognóstico, semelhante ao Luminal B (EHINGER *et al.*, 2017). De fato, o grau histológico é um forte fator independente de prognóstico (RAKHA *et al.*, 2010).

Diversos estudos demonstram que o índice proliferativo pelo marcação ou expressão do gene de Ki-67 (*MKI67*), que segrega em Luminal A e B, é um importante fator prognóstico, inclusive para recidiva a distância (INWALD *et al.*, 2013; LAIBLÉ *et al.*, 2019; ONO *et al.*, 2017; WISHART *et al.*, 2014). Porém, dentro desses próprios subtipos existem outros fatores preditivos de pior ou melhor prognóstico. Por exemplo, a expressão de PR é fator de bom prognóstico em câncer de mama inicial (N0) ER⁺ (PURDIE *et al.*, 2014), e uma maior expressão de PR é preditivo para um melhor prognóstico no subtipo Luminal B (ARIMA *et al.*, 2019) e até mesmo no subtipo Luminal A (PRAT *et al.*, 2013). Com efeito, vários estudos demonstram que a expressão de apenas um receptor hormonal é fator de pior prognóstico (BAE *et al.*, 2015; ETHIER *et al.*, 2018; NG *et al.*, 2014).

Paralelamente, atualmente existem dois importantes sistemas consolidados de classificação baseados em fatores histopatológicos e moleculares (imuno-histoquímica), mas com abordagens diferentes. O sistema do AJCC visa a classificação de estadiamento para agrupar pacientes com sobrevida global semelhante (HORTOBAGYI *et al.*, 2017), enquanto que o sistema St Gallen visa agrupar pacientes com riscos semelhantes de desenvolver recaídas à distância (BURSTEIN *et al.*, 2019; COATES *et al.*, 2015). Mesmo agora incorporando quase os mesmos fatores histopatológicos e imuno-histoquímicos em ambos os sistemas, existem certas discrepâncias na forma como são incorporados, como a expressão qualitativa de receptores hormonais em AJCC (HORTOBAGYI *et al.*, 2017), e expressão semiquantitativa de PR pelo St Gallen (BURSTEIN *et al.*, 2019; COATES *et al.*, 2015). Possíveis explicações são o efeito desses fatores no desfecho analisado ou a forma de classificá-los. Outra é a interação desses fatores entre si, que ambos os sistemas não conseguem integrar mais solidamente (COATES *et al.*, 2015; HORTOBAGYI *et al.*, 2017).

Dessa forma, o grau histológico combinado com esses marcadores imunohistoquímicos, como a expressão qualitativa ou semiquantitativa de ER e PR, bem como de Ki-67, pode ajudar a discriminar melhor o prognóstico nas pacientes luminais, tanto para metástase a distância quanto para sobrevida global simultaneamente.

OBJETIVO GERAL

Identificar pacientes com câncer de mama luminal com alto risco de desenvolvimento de metástase à distância e óbito pelo uso conjunto do grau histológico e marcadores imunohistoquímicos (Ki-67, expressão semiquantitativa de ER e PR ou ambos concomitantemente) em adição de fatores clinicopatológicos com valor prognóstico já estabelecido.

Objetivos específicos

1. Obter pontos de corte com valor prognóstico para o índice proliferativo de Ki-67 e da expressão semiquantitativa de receptores hormonais;
2. Avaliar o valor prognóstico da expressão simples de receptor hormonal (ER⁺/PR⁻ e/ou ER⁻/PR⁺) em pacientes com câncer de mama luminal;
3. Obter estratificações de risco variadas por meio de estratégias diferentes da análise conjunta de diferentes marcadores imunohistoquímicos com ou sem o grau histológico;
4. Identificar fatores de modificação de efeito da quimioterapia em pacientes com câncer de mama luminal;
5. Identificar fatores associados com agressividade tumoral (metástase linfonodal e invasão linfovascular) no câncer de mama luminal;

Identificar perfis de agressividade tumoral em pacientes com câncer de mama luminal.

METODOLOGIA

Estudo observacional retrospectivo analisando dados coletados dos prontuários de pacientes com câncer de mama atendidas no setor de oncologia da Universidade Federal de Uberlândia entre janeiro de 1981 e dezembro de 2019, perfazendo um total de 2,186 prontuários analisados, sendo realizado reestadiamento conforme a sétima edição do AJCC (EDGE *et al.*, 2015).

Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Humanos (número de protocolo inicial 803.826/14) da Universidade Federal de Uberlândia e seguiu todos os princípios éticos da Declaração de Helsinki e seus subsequentes emendas ou padrões éticos comparáveis. Foi dispensado o termo de consentimento livre e esclarecido, conforme o tipo de estudo realizado. Os pareceres se encontram no anexo A1.

Classificações e desfechos

Com base nos resultados do exame anatomopatológico e não nas anotações médicas, todas as pacientes foram reclassificados em seu TNM patológico de acordo com a Oitava Edição do AJCC (HORTOBAGYI *et al.*, 2017). A classificação mais alta do tamanho do tumor (T) e metástase linfonodal (N) entre o estadiamento clínico e patológico foi selecionada para análise de fatores prognósticos.

Os tumores foram classificados como luminais quando houve falta de superexpressão/amplificação de HER2 (0/1+ por IHQ e/ou falta de amplificação de *ERBB2* por técnica de hibridização *in situ*), e pelo menos 1% das células tumorais expressam um ou outro receptor hormonal (ER e/ou PR). Os tumores foram classificados como triplo-negativos sempre que houve falta de superexpressão/amplificação de HER2 (0/1+ por IHQ e/ou falta de amplificação de *ERBB2* por técnica de hibridização *in situ*), e menos de 1% das células tumorais expressavam ambos os receptores hormonais (ER e/ou PR) (HAMMOND *et al.*, 2010).

As idades das pacientes foram classificadas por dois pontos de corte de acordo com o desfecho analisado: ≥ 70 anos para sobrevida global devido a menor expectativa de vida, maior risco de morte por qualquer as causas e haver uma tendência de receberem menos tratamentos (WYLD; REED; COLLINS; *et al.*, 2021; WYLD; REED; MORGAN; *et al.*, 2021), e ≤ 40 anos para metástase à distância por causa de risco aumentado de recidivas em pacientes mais jovens, especialmente em pacientes com câncer luminal (LIAN *et al.*, 2017).

Os tratamentos sistêmico e radioterápico foram considerados adequados sempre que os pacientes receberam tratamento conforme indicado pelas diretrizes atuais (BUDACH *et al.*, 2015; COATES *et al.*, 2015; GOLDBIRTSCH *et al.*, 2013; SMITH *et al.*, 2018). As pacientes foram classificadas como tendo recebido ou não tratamento se houve adesão correta ou não aos protocolos de tratamento, respectivamente, conforme estudo anterior (LUZ *et al.*, 2022).

A avaliação de risco foi considerada com base no tempo desde a confirmação anatomopatológica da malignidade até os desfechos analisados. A recidiva à distância (metástase) foi analisada como desfecho primário e morte por qualquer causa (sobrevida global) como desfecho secundário; esta última foi considerada em vez de sobrevida específica pelo fato de ser objetiva e excluir vieses, como de classificação do tipo de morte (DRISCOLL; RIXE, 2009; MARIOTTO *et al.*, 2014; SARFATI *et al.*, 2010).

Métodos de histopatologia e imunohistoquímica

A avaliação histopatológica de grau histológico e invasão linfovascular, bem como da marcação por IHQ foram retirado dos respectivos laudos apensos nos prontuários das pacientes.

De acordo com as diretrizes padrão do laboratório de Patologia da referida Instituição, as análises histopatológica e de IHQ foram realizadas por um patologista e confirmadas independentemente por outro patologista.

Conforme padrões do laboratório local da Instituição, o grau histológico foi avaliado pela coloração com hematoxilina e eosina das lâminas histológicas e a classificação foi realizada de acordo com o sistema de Nottingham (ELSTON; ELLIS, 1991; RAKHA *et al.*, 2010).

Os dados imuno-histoquímicos foram recuperados de relatórios de imuno-histoquímica (IHQ). As IHQs foram realizadas prospectivamente no laboratório local da Instituição de acordo com as diretrizes de boas práticas preservadas ao longo do tempo (HAMMOND *et al.*, 2010; SHOUSA; PESTON, 1997). A detecção e a revelação foram realizadas por um sistema avidina-biotina-peroxidase.

Classificação da expressão semiquantitativa dos receptores hormonais

A maioria das pacientes teve sua expressão de HRs relatada no sistema de cruzes por Sannino e Shousha (SANNINO; SHOUSA, 1994). Este é um sistema de classificação ordinal para a expressão do receptor hormonal com base na porcentagem de células tumorais que expressam o marcador e a intensidade da sua expressão. Para padronização, os poucos relatos em intensidade e/ou porcentagem de células tumorais expressantes foram transformados para este sistema de cruzes, conforme disponível na literatura (SANNINO; SHOUSA, 1994; SHOUSA; PESTON, 1997).

Os tumores foram classificados em: 1+, sempre que $\geq 1\%$ e $\leq 10\%$ de células tumorais expressem com baixa intensidade o receptor; 3+, sempre que 60-90% das células tumorais expressem o receptor com intensidade moderada/forte; e 4+, sempre que $>90\%$ das células tumorais expressem o receptor com forte intensidade. Tumores com expressão maior que 1+ e menor que 3+ são considerados como com expressão indefinida, pois são de espectro muito amplo (SANNINO; SHOUSA, 1994; SHOUSA; PESTON, 1997). Portanto, esses pacientes não foram incluídos nas análises iniciais.

Posteriormente, as pacientes também foram reclassificadas pela soma do padrão de expressão ambos HRs em um sistema de 1 a 8 pontos. Como não foi estabelecido um consenso para a classificação 2+, as pacientes nesta situação foram incluídas apenas se o outro HR tivesse um padrão de expressão 4+, sendo classificado como 5, ou 1+, sendo classificado como 3, ou 0, sendo classificado como 2. A classificação 2+ só foi considerada se acompanhada da porcentagem e marcação de ambos os receptores para permitir a soma de sua expressão

semiquantitativa. A expressão de ambos os receptores hormonais, e seu composto (soma - cHR), foram avaliadas como variáveis contínuas.

Tratamentos locorreionais e sistêmicos

A avaliação de adesão a tratamentos se deu conforme previamente publicado (DE ARAUJO *et al.*, 2021; LUZ *et al.*, 2022).

A margem cirúrgica, abordagem cirúrgica e cirurgia de linfonodo foram classificadas de acordo com a análise anatomopatológica das abordagens de intenção curativa, incluindo as reabordagens realizadas em tempo razoável (aproximadamente 2 meses) após a primeira cirurgia. A margem cirúrgica foi considerada positiva sempre que as células tumorais invadiram a margem por laudos microscópicos de análise anatomopatológica; uma margem cirúrgica foi definida como negativa se nenhuma célula tumoral invadiu a margem; e uma margem próxima (<2mm) foi considerada negativa.

Os tratamentos sistêmico e radioterápico foram considerados adequados sempre que as pacientes receberam tratamento conforme indicado pelas diretrizes atuais (BUDACH *et al.*, 2015; COATES *et al.*, 2015; GOLDBIRSCHE *et al.*, 2013; SMITH *et al.*, 2018). A Tabela 2 mostra os protocolos de tratamento sistêmico de acordo com os critérios de indicação terapêutica, e a Figura 6 mostra o racional da irradiação volumétrica de acordo com as abordagens cirúrgicas e as características clínico-patológicas.

Um tratamento sistêmico foi considerado correto quando pacientes com câncer triplo negativo receberam quimioterapia e pacientes com câncer luminal receberam terapia endócrina. A quimioterapia foi considerada obrigatória para pacientes com câncer luminal apenas se tivessem ≥ 4 linfonodos metastáticos.

A radioterapia foi avaliada de acordo com os volumes irradiados, com planejamento 2D convencional. Os volumes incluíram mama/parede torácica, axila e fossa supraclavicular. Axila foi definida como nível axilar 1 a 2 e fossa supraclavicular como nível 3 a 4. A radioterapia foi considerada adequada em pacientes que receberam irradiação de toda a mama após cirurgia conservadora da mama, ou submetidas à mastectomia radical e receberam irradiação da parede torácica se tivessem pelo menos uma das seguintes características: margem cirúrgica positiva, doença T3/T4 ou ≥ 1 linfonodos metastáticos positivos. A irradiação local (não regional) correta exigia um mínimo de 45Gy em frações de 1,8Gy ou 2,0Gy.

A radioterapia regional foi considerada correta se as pacientes submetidas à técnica do linfonodo sentinela com 1 ou 2 linfonodos sentinelas patologicamente comprometidos receberam irradiação axilar (nível I-II) apenas se não receberam dissecação linfonodal axilar

complementar; ou se pacientes com ≥ 4 linfonodos metastáticos axilares sem quimioterapia neoadjuvante receberam irradiação da fossa supraclavicular (nível III-IV); ou se os pacientes com ≥ 1 linfonodos metastáticos axilares que receberam quimioterapia neoadjuvante receberam irradiação da fossa supraclavicular (nível III-IV). A entrega de um mínimo de 45 Gy em frações de 1,8 Gy ou 2 Gy em ambos os locais anatômicos foi considerada adequada.

Separadamente, a radioterapia de reforço foi classificada como correta se a paciente recebeu uma quantidade mínima adicional de 9 Gy, em regime de 1,8 Gy ou fração de 2 Gy, nos casos com idade ≤ 50 anos, tumor grau 3 ou margem cirúrgica positiva, quando submetida à cirurgia conservadora, ou margem cirúrgica positiva, quando submetida à mastectomia.

As pacientes foram classificadas pela adesão à radioterapia local e regional separadamente. Ambos os manejos foram classificados em variáveis de duas categorias.

Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídas pacientes do sexo feminino com carcinoma ductal invasivo não metastático sem tipo histológico especial. Foram excluídos os pacientes que apresentavam: dados imuno-histoquímicos, anatomopatológicos e clínicos incompletos; câncer bilateral; mais de um câncer primário; causa de morte não declarada; e tempo de seguimento inferior a 180 dias (6 meses) do diagnóstico ao evento/censura para evitar metástases síncronas não diagnosticadas/não detectadas. De um total de 2.186, 619 foram selecionados nessa condição, com laudo clínico-patológico completo. O fluxograma representado na Figura 7 representa essa dinâmica conforme as diretrizes STROBE (*Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology*) (VON ELM *et al.*, 2007).

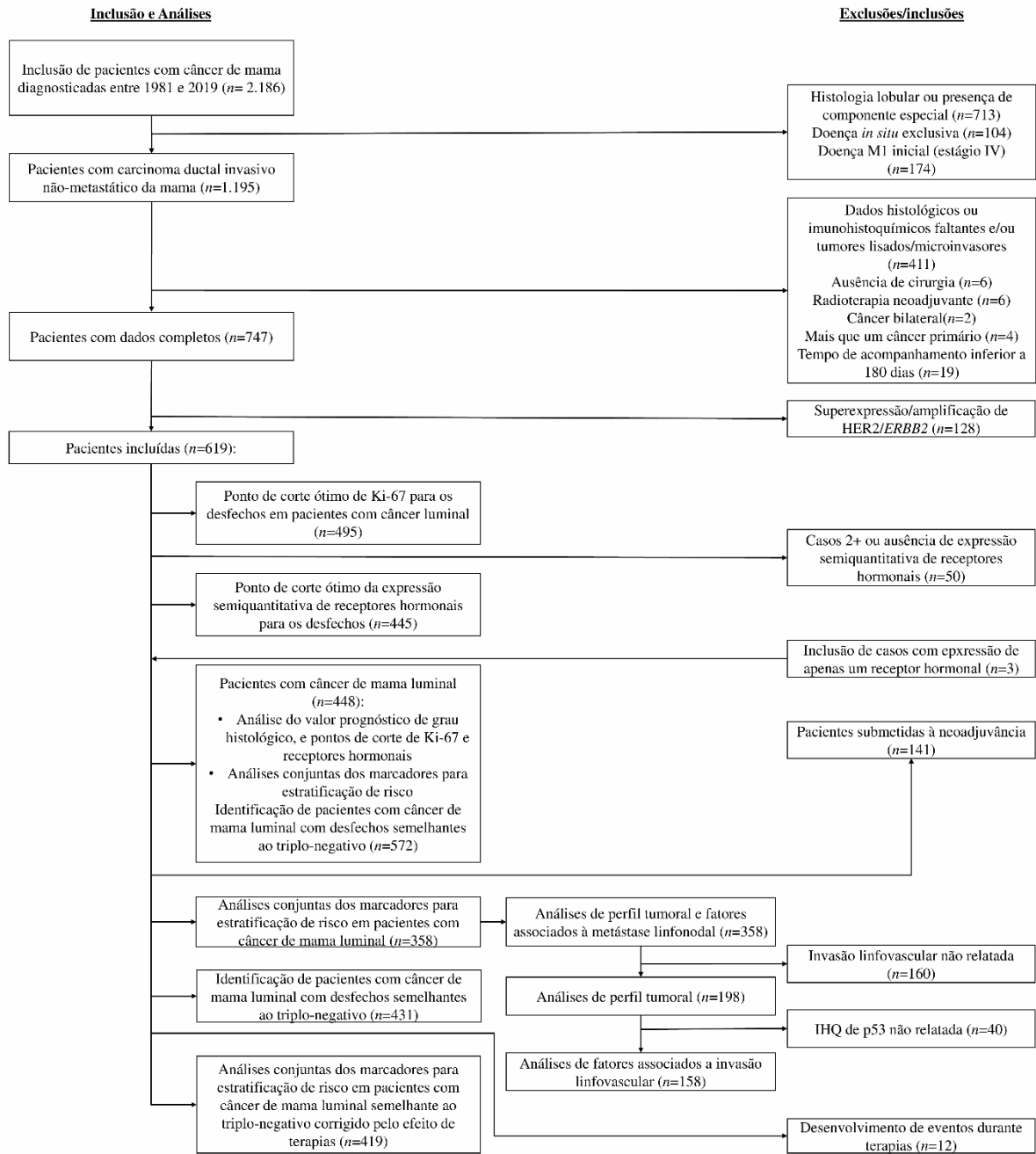


Figura 7. Fluxograma de seleção de pacientes no estudo conforme objetivos e análises.

Dados extraídos do *Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER)*

O Programa SEER coleta e publica dados de incidência e sobrevivência de câncer de registros de câncer de base populacional que cobrem aproximadamente 48,0% da população dos EUA. Dentre as informações coletadas, estão dados demográficos da(o) paciente, local do tumor primário, morfologia do tumor e estágio no diagnóstico, primeiro curso de tratamento e acompanhamento do estado vital (NIH, 2022b).

Esse banco de dados foi acessado com o objetivo de avaliar a associação da expressão qualitativa de HRs e grau histológico na sobrevida global de pacientes com câncer de mama a nível populacional, possibilitando o direcionamento de algumas análises dos dados das pacientes tratadas no Setor de Oncologia do Hospital de Clínicas/UFU. A base de dados foi analisada sob o ID 14659-Nov2021 autorizada para Felipe Andrés Cordero da Luz. Os dados das pacientes foram extraídas do banco de dados SEER 18 Registres, Nov 2020 sub – 2000-2018. Foi utilizado o estadiamento TNM derivado da sétima edição do AJCC, pois a oitava edição contém apenas pacientes diagnosticadas a partir de 2018. Os subtipos moleculares derivados da expressão qualitativa de receptor hormonal (ER e/ou PR) e HER2 e a classificação de etnia (raça) em branca, negra e outras, fornecidos pelo banco de dados, foram utilizados. Como banco de dados SEER tem uma sensibilidade geral de 80% para dados de radioterapia e de 68% para dados de quimioterapia, podendo gerar viés (NIH, 2022c; NOONE *et al.*, 2016), estes não foram incluídos.

Os desfechos de sobrevida global e sobrevida específica foram utilizados. Este último foi utilizado como um indicador indireto de progressão da doença, possibilitando identificar, mesmo que não de forma objetiva, fatores prognósticos associados com recidivas.

Critérios de inclusão e exclusão semelhantes à coorte local foram aplicados. De acordo com as codificações do banco de dados do SEER disponíveis nos manuais de registro (NIH, 2022a; d), foi possível incluir pacientes do sexo feminino com carcinoma ductal invasivo da mama e realizar as exclusões conforme os seguintes critérios: raça/etnia não relatada; renda familiar anual não relatada; idade não relatada ou inferior a 18 anos; doença *in situ* exclusiva; doença metastática; mais de um câncer primário; ausência de cirurgia ou apenas autópsia; câncer bilateral; tumor lisado/destruído; tumor microinvasor (T1mi); ausência de tumor analisado; tipo de cirurgia não relatada; quantidade de linfonodos removidos não relatada; sem relato de linfonodos removidos; sem relato de linfonodos analisados; quantidade de linfonodos positivos não relatada; metástase linfonodal microinvasora (N1mi); sem critério para estadiamento pelo AJCC; grau histológico não relatado; dados faltantes de ER; dados faltantes de PR; dados faltantes de HER2; superexpressão/amplificação de HER2/*ERBB2*; câncer triplo-

negativo; tempo de observação <6 meses; tratamento neoadjuvante; estadiamento puramente clínico; e óbito não relatado. No total, foram incluídos dados de 65.517 pacientes. Os fatores booleanos se encontram no Anexo A2.

Análises estatísticas

O teste de normalidade Shapiro Wilk, análises descritivas, análises de tabelas cruzadas de associação de contingência (χ^2 de Pearson e teste de Fisher), de tamanho de efeito (V de Cramer) ou de concordância (teste Kappa de Cohen), estimador de Kaplan-Meier, regressão de Cox, regressão logística binária e ordinal, e Análise Componentes Principais Categóricas (ACPC) foram realizadas no software IBM SPSS v25.0. As curvas de sobrevivência com preditor contínuo e o estabelecimento de seu ponto de corte ótimo foram realizadas no software Jamovi v1.6.5.0. Em todas as análises foi considerada significância estatística quando atingido um $p < 0,05$.

As variáveis contínuas (idade, Ki-67, tempos de observação) foram consideradas como tendo uma distribuição normal quando atingiram um $p > 0,05$ pelo teste de Shapiro Wilk. Para variáveis com distribuição normal foi descrita a média com o desvio padrão, mas para variáveis com distribuição não-normal foi descrita a média com o mínimo e o máximo.

Para testar a associação entre fatores categóricos interdependentes, como grau histológico, expressão semiquantitativa de receptores hormonais, pontos de corte de Ki-67 ou da expressão semiquantitativa de receptores hormonais, marcação de p53 e invasão linfovascular, foi utilizado o teste χ^2 de Pearson ou o teste de Fisher, quando uma das chancelas apresentou frequência absoluta igual ou menor a 4. A associação foi considerada positiva quando os resíduos padronizados ajustados do χ^2 de Pearson ou teste de Fisher tiveram um valor $\geq (+2,0)$ e considerada associação negativa quando o valor foi $\leq (-2,0)$, desde que o teste atinja um p-valor $< 0,05$.

O tamanho de efeito da associação entre duas variáveis categóricas foi avaliado pelo V de Cramer com o objetivo de avaliar a intensidade da associação entre as variáveis. Para avaliar o tamanho de efeito, os graus de liberdade foram obtidos pelo produto da subtração de uma unidade do número de níveis/categorias de ambas variáveis (coluna e linha). Como o tamanho de efeito de V de Cramer depende do grau de liberdade, estes foram explicitados no texto, sendo que os valores para classificação em tamanho de efeito pequeno, moderado e grande são progressivamente menores com o aumento dos graus de liberdade. Esse tamanho de efeito só foi interpretado se o teste atingiu um p-valor $< 0,05$.

Para testar o grau de concordância entre dois classificadores, o teste Kappa de Cohen foi utilizado. Valores de Kappa $< 0,20$, $> 0,2$ e $< 0,40$, $> 0,41$ e $< 0,60$, $> 0,60$ e $< 0,80$ e $> 0,80$ foram

considerados como concordância ruim, pequena, moderada, boa e muito boa, respectivamente. Essa concordância só foi interpretada se o teste atingiu um p-valor $<0,05$.

Para análise de fatores associados a prognóstico, o modelo multivariável de regressão de Cox foi implementado. Todas as variáveis (idade categorizada, T, N, grau histológico, Ki-67 categorizado, expressão de receptores hormonais – qualitativo ou semiquantitativo categorizado-, tratamento sistêmico e tratamento radioterápico), bem como as classificações de risco obtidas no estudo, foram testadas e consideradas como fatores independentes de prognóstico se atingirem um p-valor $<0,05$ em análise multivariável.

O estimador Kaplan-Meier com o teste Log-Rank foi utilizado para análise da proporcionalidade de riscos para variáveis categóricas como pré-requisito para consideração da variável no modelo de regressão de Cox em análise univariável para ambos desfechos (metástase a distância e sobrevida global). Para variáveis contínuas, avaliou-se a correlação entre os resíduos parciais gerados pela regressão de Cox univariável com o tempo de observação para cada desfecho; a dependência do tempo foi assumida na presença de correlação entre essas variáveis, analisadas visualmente pelo gráfico de dispersão.

Na quebra do pré-requisito da proporcionalidade dos riscos, foram utilizados modelos de regressão de Cox tempo-dependente. Para as variáveis categóricas, os tempos de observação foram categorizados no momento da inflexão (cruzamento) entre as curvas, e foi utilizada a variável T_COV com interação (*) com essa categorização. A análise univariável dos fatores prognósticos em contexto dependente do tempo foi realizada na presença da variável T_COV*.

O modelo de regressão de Cox com valor prognóstico máximo para a coorte analisada foi obtido por meio de uma análise de dois blocos. No primeiro bloco, os fatores candidatos foram incluídos e utilizado o método *Stepwise Forward* Wald com p-valor de entrada igual a 0,10 e p-valor de saída igual a 0,05 para reduzir colapsibilidade de covariáveis (MICKEY; GREENLAND, 1989) e modelos superajustados (*overfitting*); no segundo bloco foi utilizado o método de entrada forçada de fatores prognósticos conhecidos, como T, N e idade, e tratamentos, quando pertinente. Um segundo modelo foi construído inserindo todas as variáveis com valor de $p < 0,05$ na análise univariável, ou com valor teórico conhecido, para corrigir qualquer possível *overfitting*. O contraste simples foi utilizado para estabelecer o nível de referência das variáveis categóricas; o contraste repetido foi usado para realizar agrupamento de níveis com prognóstico semelhante dentro de uma variável.

A regressão logística ordinal foi realizada para avaliar os fatores clinicopatológicos (idade, T, grau histológico) e imunohistoquímicos (Ki-67, ER, PR) que possuem valor preditivo de metástase linfonodal. A validade do modelo foi avaliado pelo p-valor da informação de

ajuste de modelo, sendo considerado um p -valor $<0,05$ como significativo, e qualidade do ajuste, sendo considerado um p -valor $>0,05$ para os testes Pearson e Desvio como aderência do modelo aos dados, sendo desejável um p -valor próximo de 1 e semelhante para ambos testes. A suposição do modelo de chances proporcionais (Proportional Odds) para a regressão ordinal foi avaliada pelo teste de linhas paralelas, a qual possui uma hipótese nula de que as chances são proporcionais; um p -valor $>0,05$ rejeita a hipótese alternativa de que as chances não são proporcionais. Na rejeição da hipótese nula, a regressão logística multinomial será utilizada como alternativa. Os modelos multivariáveis foram construídos tanto no comando de regressão logística ordinal quanto no comando de modelos lineares generalizados para obtenção dos coeficientes exponenciados (OR) e para avaliar a dispersão dos modelos. A sobredispersão foi considerada quando a razão valor/df (valor/df) foi superior a 1,2.

A regressão logística binária foi realizada para avaliar os fatores clinicopatológicos (idade, T, grau histológico) e imunohistoquímicos (Ki-67, expressão semiquantitativa de ambos receptores) que possuem valor preditivo de invasão linfovascular. O teste de Hosmer-Lemeshow foi utilizado para checar a validade do modelo, sendo adequado quando p -valor $>0,05$. Dois modelos multivariáveis foram construídos, ambos utilizando o método *Stepwise Forward Wald* com valor p de entrada igual a 0,10 e valor p de saída igual a 0,05 para reduzir colapsabilidade de covariáveis (MICKEY; GREENLAND, 1989) e modelos superajustados (*overfitting*). O primeiro modelo incluiu todas as variáveis em análise inicial, enquanto que o segundo modelo excluiu o fator de estratificação de risco retido no primeiro modelo.

O software IBM SPSS v.28.0 foi utilizado para corroborar os achados dos modelos multivariáveis final das regressões logísticas e de Cox convencional, sempre utilizando a técnica de *bootstrapping Bias Correction accelerated* com uma reamostragem de, no mínimo, $n=1.000$. A interpretação dos resultados do *bootstrapping* se deu pela análise dos intervalos de confiança, sendo considerado como não significativo se passa pelo ponto de não-efeito (zero). No caso de não-significância, o p -valor e o viés foram considerados para conclusões mais robustas.

A ACPC foi realizada utilizando as variáveis categóricas T, N, grau histológico, expressão semiquantitativa de ER e PR pelo sistema de cruzes, invasão linfovascular e a discretização de Ki-67 em dez níveis (decis). Dessa forma, é possível realizar uma análise qualitativa de diversos fatores e criar perfis. Não foi permitida imputação de dados, mas foi utilizado um *bootstrapping* não balanceado do tipo procrustes, com um $n=10.000$. O método de normalização de variável principal foi utilizado para obtenção das dimensões. A análise das transformadas foi realizada com o objetivo de colapsar categorias/níveis com mesmo nível de

informação. A consistência foi avaliada pelo α de Cronbach, assumindo uma consistência minimamente aceitável quando $>0,60$. Os valores de eigenvalue das dimensões e os valores de α de Cronbach, bem como o eigenvalue da área do elipse foram utilizados para comparar modelos diferentes, sendo que valores maiores para os dois primeiros e valores menores para o último são indicativos de melhores modelos.

Como a ACPC se baseia em um matriz dos resíduos padronizados de análise de associação por χ^2 entre variáveis categóricas, tendo como produto principal o gráfico de categoria conjunta, aproximando categorias de variáveis distintas quanto maior sua associação. Assim, perfis de agressividade tumoral foram identificado por meio dessa análise qualitativa.

RESULTADOS

Análise de fatores de risco em pacientes com câncer de mama luminal

Das 619 pacientes incluídas no estudo, 495 e 124 foram identificadas como tendo câncer de mama luminal e triplo negativo, respectivamente. Em um período médio de observação de 64,9 meses, foram observados 112 eventos de metástase à distância e 112 óbitos, sendo que 96 (85,71%) desses óbitos foram causados por metástases à distância. Os dados detalhados estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Dados clínicos das pacientes incluídas no estudo ($n=619$)

Variável	Coorte inteira		Pacientes com câncer luminal		Pacientes com câncer triplo-negativo	
	N (%)	Mediana (min.– max.)	N (%)	Mediana (min.– max.)	N (%)	Mediana (min.– max.)
Tempo até metástase	619 (100)	62,50 meses (3,67 – 247,40)	495 (100)	63,94 meses (6,17 – 247,40)	124 (100)	47,74 meses (3,67 – 200,57)
Tempo de observação	619 (100)	64,90 meses (3,67 – 247,40)	495 (100)	65,90 meses (6,53 – 247,40)	124 (100)	52,82 meses (3,67 – 200,57)
Idade	619 (100)	56 anos (26 – 92)	495 (100)	57 anos (26 – 92)	124 (100)	53 anos (29 – 88)
Idade						
	<70 anos	520 (84,0)	411 (83,0)		109 (87,9)	
	≥70 anos	99 (16,0)	84 (17,0)		15 (12,1)	
Idade						
	≤40 anos	61 (9,9)	43 (8,7)		18 (14,5)	
	>40 anos	558 (90,1)	452 (91,3)		106 (85,5)	
Eventos de metástase		112 (18,1)	80 (16,2)		32 (25,8)	
Eventos de morte		112 (18,1)	76 (15,4)		36 (29,0)	
Método cirúrgico						
	Conservador	338 (54,6)	281 (56,8)		57 (46,0)	
	Mastectomia	281 (45,4)	214 (43,2)		67 (54,0)	
Margem cirúrgica						
	Negativa	571 (92,2)	455 (91,9)		116 (93,5)	
	Positiva	48 (7,8)	40 (8,1)		8 (6,5)	
T						
	T1	194 (31,3)	171 (34,5)		23 (18,5)	
	T2	265 (42,8)	214 (43,2)		51 (41,1)	
	T3	103 (16,6)	67 (13,5)		36 (29,0)	
	T4	57 (9,2)	43 (8,7)		14 (11,3)	

N						
	N0	331 (53,5)		262 (52,9)		69 (55,6)
	N1	183 (29,6)		144 (29,1)		39 (31,5)
	N2	75 (12,1)		64 (12,9)		11 (8,9)
	N3	30 (4,8)		25 (5,1)		5 (4,0)
Grau histológico						
	G1	87 (14,1)		83 (16,8)		4 (3,2)
	G2	401 (64,8)		349 (70,5)		52 (41,9)
	G3	131 (21,2)		63 (12,7)		68 (54,8)
Expressão qualitativa de HRs						
	Nenhum (triplo-negativo)	124 (20,0)		-----		124 (100)
	Um (ER-/PR ⁺)	20 (3,2)		20 (4,0)		-----
	Um (ER ⁺ /PR ⁻)	62 (10,1)		62 (12,5)		-----
	Dois (ER ⁺ /PR ⁺)	413 (66,7)		413 (83,43)		-----
Expressão de Ki-67		619 (100)	20 (1 – 100)	495 (100)	20% (1 – 97)	124 (100) 40% (4 – 100)
Invasão linfovascular						
	Ausente	192 (31,0)		150 (30,3)		42 (33,9)
	Presente	158 (25,5)		126 (25,5)		32 (25,8)
	Não relatado	350 (56,5)		219 (44,2)		50 (40,3)
Mutação de p53						
	Ausente	196 (31,7)		163 (32,9)		33 (26,6)
	Presente	294 (47,5)		223 (45,1)		71 (57,3)
	Não relatado	129 (20,8)		109 (22,0)		20 (16,1)
Terapia hormonal						
	Não	-----		16 (3,2)		-----
	Sim	-----		479 (96,8)		-----

Quimioterapia				
	Não	140 (22,6)	128 (26,8)	12 (9,7)
	Neoadjuvante	150 (24,2)	99 (20,0)	51 (41,1)
	Adjuvante	329 (53,2)	268 (53,2)	61 (49,2)

Tratamento sistêmico				
	Inadequado	59 (9,5)	31 (6,3)	28 (22,6)
	Adequado	560 (90,5)	464 (93,7)	96 (77,4)

Radioterapia local				
	Inadequado	45 (7,3)	34 (6,9)	11 (8,9)
	Adequado	574 (92,7)	461 (93,1)	113 (91,1)

Para identificar fatores de risco associados ao desenvolvimento de metástases à distância e óbito em pacientes com câncer de mama luminal foram realizadas análises apenas neste subgrupo.

Análises de sobrevivência para variáveis contínuas foram realizadas para Ki-67 e a expressão quantitativa dos HRs e os pontos de corte ótimos foram identificados. Para Ki-67, a análise de sobrevida não mostrou associação com sobrevida livre de metástases à distância (DMFS) [HaR: 1,01 (1,00 -1,02), p=0,116]. Mas para a sobrevida global (OS) um incremento de 1% de células tumorais expressando Ki-67 aumenta em 1% as chances de morte [HaR: 1,01 (1,00 – 1,02), p=0,009]. Os pontos de corte ótimos recuperados pela análise foram >11 e >12 para DMFS e OS, respectivamente.

Posteriormente, testou-se se existe valor prognóstico da expressão semiquantitativa dos receptores hormonais (HR) e quais são os pontos de corte ótimos. No entanto, 41 pacientes foram classificados na categoria 2+ do sistema ordinal (cruzado), que tem uma expressão muito ampla (10-60% das células expressando), gerando inconsistências para reclassificação semiquantitativa. Além disso, 9 pacientes não apresentaram expressão quantitativa expressa em porcentagem ou no sistema ordinal. Por esse motivo, essas 50 pacientes não foram incluídas em análises posteriores. Assim, apenas 445 pacientes com tumores luminais foram incluídos na análise subsequente. Para analisar o potencial fator prognóstico de variáveis contínuas como Ki-67 e receptores hormonais, foi realizada análise de sobrevida e os pontos de corte ótimos foram atribuídos pelo sistema. Apenas pacientes com tumores luminais foram incluídas neste conjunto de análise.

Para DMFS, a expressão semiquantitativa de PR [HaR: 0,83 (0,70 – 0,99), p=0,035] foi significativa, significando uma redução de risco de 17% por incremento de 1+. O composto de receptores hormonais (cHR) mostrou apenas uma tendência para OS [HaR: 0,90 (0,80 -1,01), p=0,064], significando uma redução de risco de 10% por incremento de 1 ponto, mas sem significância. Os pontos de corte ótimos obtidos pela análise foram >1 e >4 para PR e cHR, respectivamente.

Para OS, a expressão semiquantitativa PR [HaR: 0,81 (0,68 – 0,96), p=0,018] e cHR [HaR: 0,89 (0,79 – 1,00), p=0,046] foram significativas, significando uma redução de risco de 19% e 11% por incremento de 1 ponto por cada sistema, respectivamente. Os pontos de corte ótimos obtidos pela análise foram >1 e >4 para PR e cHR, respectivamente.

Embora com correlação moderada (rho de Spearman: 0,398, p<0,005), observou-se forte associação (χ^2 de Pearson: 176,768, p<0,005) e um tamanho de efeito grande (V de

Cramer_{df16}: 0,315. $p < 0,005$) entre ER e PR, mas a expressão semiquantitativa de ER não foi significativa para nenhum desfecho.

Como os resultados foram obtidos por meio da análise de variáveis que podem violar o pressuposto de proporcionalidade de risco, estas foram categorizadas de acordo com os pontos de corte obtidos na análise anterior, e a proporcionalidade foi testada por meio de curva de Kaplan-Meier (KM) e teste Log-Rank de classificação. O ponto de corte >12 para Ki-67 foi escolhido pela mínima diferença prognóstica para DMFS e por este ter uma concordância total com o ponto de corte amplamente utilizado na literatura de ≥ 14 (Kappa de Cohen: 1,000, $p < 0,005$). Os pontos de corte >1 e >4 foram selecionados para PR e cHR, respectivamente, em função da significância nos resultados de análises anteriores.

O corte de cHR permitiu a inclusão de mais três pacientes devido à única expressão de ER em seus tumores, totalizando 448 pacientes luminais incluídas em análises posteriores. Os dados clínicos dos 572 pacientes, 448 com tumores luminais e 124 com tumores triplo-negativos, para análise posterior a partir deste ponto, estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4. Dados clínicos das pacientes incluídas nas análises posteriores ($n=572$)

Variável	Coorte inteira		Pacientes com câncer luminal		Pacientes com câncer triplo-negativo	
	N (%)	Mediana (min.– max.)	N (%)	Mediana (min.– max.)	N (%)	Mediana (min.– max.)
Tempo até metástase	572 (100)	62,28 meses (3,67 – 247,40)	448 (100)	64,50 meses (6,17 – 247,40)	124 (100)	47,74 meses (3,67 – 200,57)
Tempo de observação	572 (100)	65,35 meses (3,67 – 247,40)	448 (100)	66,15 meses (6,53 – 247,40)	124 (100)	52,82 meses (3,67 – 200,57)
Idade	572 (100)	56 anos (26 – 92)	448 (100)	56,5 anos (30 – 92)	124 (100)	53 anos (29 – 88)
Idade						
	<70 anos	481 (84,1)		372 (83,0)		109 (87,9)
	≥70 anos	91 (15,9)		76 (17,0)		15 (12,1)
Idade						
	≤40 anos	58 (10,1)		40 (8,9)		18 (14,5)
	>40 anos	514 (89,9)		408 (91,1)		106 (85,5)
Eventos de metástase		105 (18,4)		73 (16,3)		32 (25,8)
Eventos de morte		105 (18,4)		69 (15,4)		36 (29,0)
Método cirúrgico						
	Conservador	316 (55,2)		259 (57,8)		57 (46,0)
	Mastectomia	256 (44,8)		189 (42,2)		67 (54,0)
Margem cirúrgica						
	Negativa	528 (92,3)		412 (92,0)		116 (93,5)
	Positiva	44 (7,7)		36 (8,0)		8 (6,5)
T						
	T1	178 (31,1)		155 (34,6)		23 (18,5)
	T2	243 (42,5)		192 (42,9)		51 (41,1)
	T3	96 (16,8)		60 (13,4)		36 (29,0)
	T4	55 (9,6)		41 (9,2)		14 (11,3)

N						
	N0	307 (53,7)		238 (53,1)		69 (55,6)
	N1	171 (29,9)		132 (29,9)		39 (31,5)
	N2	66 (11,5)		55 (12,3)		11 (8,9)
	N3	28 (4,9)		23 (5,1)		5 (4,0)
Grau histológico						
	G1	77 (13,5)		73 (16,3)		4 (3,2)
	G2	372 (65,0)		320 (71,4)		52 (41,9)
	G3	123 (21,5)		55 (12,3)		68 (54,8)
Expressão qualitativa de HRs						
	Nenhum (triplo-negativo)	124 (21,7)		-----		124 (100)
	Um (ER ⁻ /PR ⁺)	20 (3,5)		20 (4,5)		-----
	Um (ER ⁺ /PR ⁻)	62 (10,8)		62 (13,8)		-----
	Dois (ER ⁺ /PR ⁺)	366 (64,0)		366 (81,7)		-----
Expressão de Ki-67		572	20% (1 – 100)	448	20% (1 – 97)	124 (100) 40% (4 – 100)
Invasão linfovascular						
	Ausente	183 (32,0)		141 (31,5)		42 (33,9)
	Presente	146 (25,5)		114 (25,4)		32 (25,8)
	Não relatado	329 (57,5)		193 (43,1)		50 (40,3)
Mutação de p53						
	Ausente	178 (31,1)		145 (32,3)		33 (26,6)
	Presente	272 (47,6)		201 (44,9)		71 (57,3)
	Não relatado	122 (21,3)		102 (22,8)		20 (16,1)
Terapia hormonal						
	Não	-----		15 (3,3)		-----
	Sim	-----		433 (96,7)		-----

Quimioterapia				
	Não	126 (22,0)	114 (25,4)	12 (9,7)
	Neoadjuvante	141 (24,7)	90 (20,1)	51 (41,1)
	Adjuvante	305 (53,3)	244 (54,5)	61 (49,2)

Tratamento sistêmico				
	Inadequado	56 (9,8)	28 (6,3)	28 (22,6)
	Adequado	516 (90,2)	420 (93,8)	96 (77,4)

Radioterapia local				
	Inadequado	40 (7,0)	29 (6,5)	11 (8,9)
	Adequado	532 (93,0)	419 (93,5)	113 (91,1)

No geral, a categorização do Ki-67 e a expressão semiquantitativa de PR e cHR mostraram significância, ou tendência, para ambos os desfechos (Figuras 8 a 10).

A expressão qualitativa dos HRs e o grau histológico também têm valor prognóstico. Portanto, eles foram avaliados por KM. Ao contrário da expressão semiquantitativa, a expressão qualitativa dos HRs foi significativa apenas para OS (Figura 11). O grau histológico também mostrou significância, ou tendência, para ambos os desfechos (Figura 12).

Diferentemente dos fatores patológicos (T e N – dados não exibidos), os riscos permanecem proporcionais durante os primeiros 60 meses (5 anos), com alterações em momentos posteriores, sendo observados cruzamentos próximos a 120 meses (10 anos) para alguns fatores (Figuras 8 a 12). Portanto, a análise tempo-dependente foi realizada utilizando o termo de interação com o tempo (T_COV*) categorizado a 120 meses.

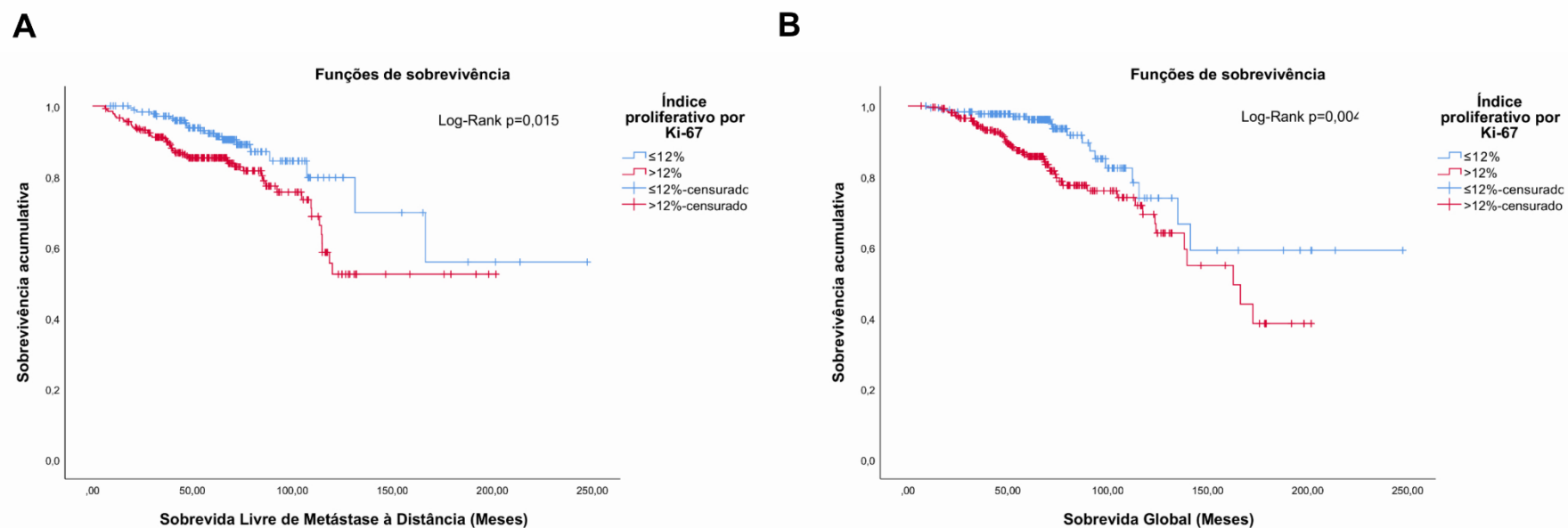


Figura 8. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com o nível de expressão do Ki-67 em pacientes com câncer de mama luminal ($n=448$). (A) Sobrevida livre de metástases à distância. (B) Sobrevida global. Por análises das curvas, é possível observar que pacientes cujos tumores possuem menor índice de proliferação ($Ki-67 \leq 12\%$) possuem sobrevidas maiores que aquelas cujos tumores possuem maiores índices ($Ki-67 > 12\%$).

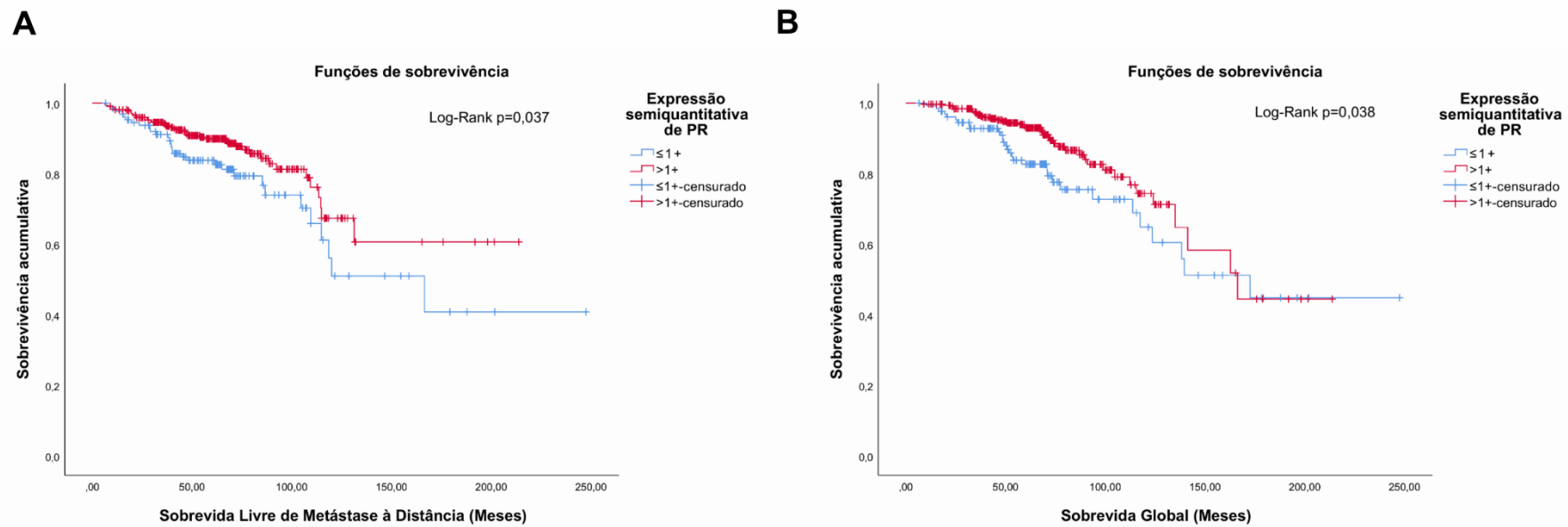


Figura 9. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com o nível de expressão semiquantitativa do receptor de progesterona (PR) em pacientes com câncer de mama luminal (n=448). (A) Sobrevida livre de metástases à distância. (B) Sobrevida global. Por análises das curvas, é possível observar que pacientes cujos tumores possuem menores índices de PR ($\le 1+$) possuem sobrevidas menores que aquelas cujos tumores possuem maiores índices ($> 1+$).

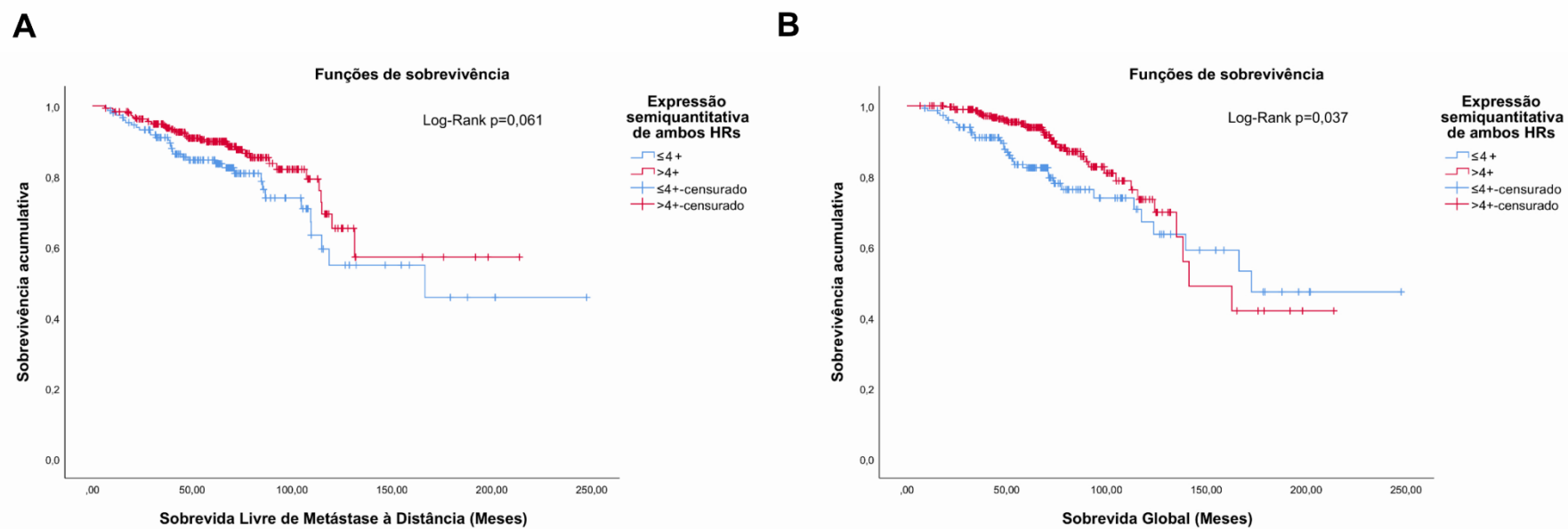


Figura 10. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com o nível de expressão semiquantitativa de ambos os receptores hormonais (HRs) em pacientes com câncer de mama luminal (n=448). (A) Sobrevida livre de metástases à distância. (B) Sobrevida global. Por análises das curvas, é possível observar que pacientes cujos tumores possuem menores índices de HRs ($\leq 4+$) possuem sobrevidas menores que aquelas cujos tumores possuem maiores índices ($> 4+$).

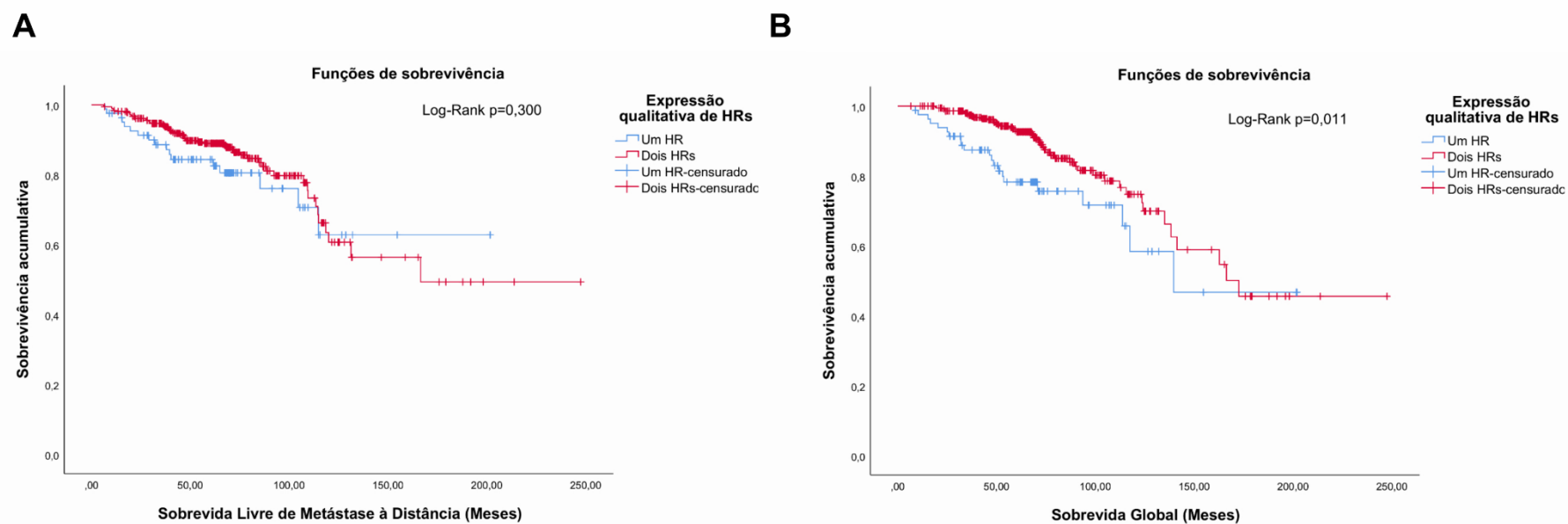


Figura 11. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com a expressão qualitativa de receptores hormonais (HRs) em pacientes com câncer de mama luminal ($n=448$). (A) Sobrevida livre de metástases à distância. (B) Sobrevida global. Por análises das curvas, é possível observar que pacientes cujos tumores possuem expressão de apenas um HR possuem sobrevida global menor que aquelas cujos tumores expressam ambos HRs.

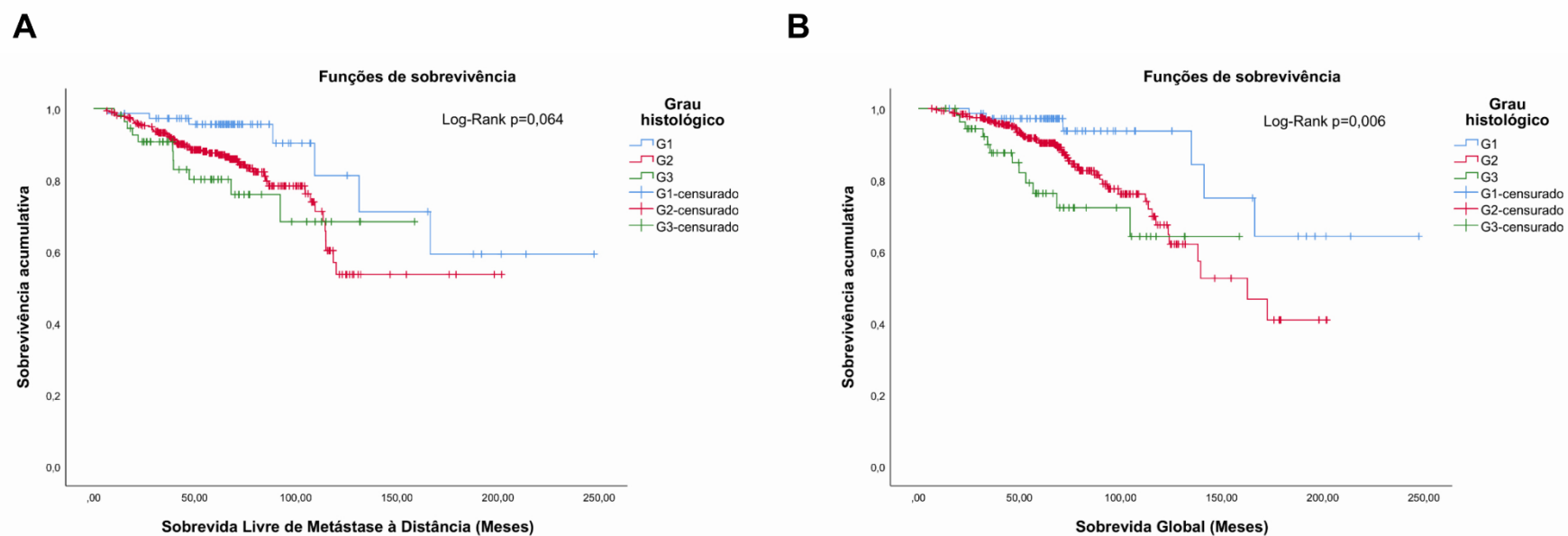


Figura 12. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com o grau histológico em pacientes com câncer de mama luminal (n=448). (A) Sobrevida livre de metástases à distância. (B) Sobrevida global. Por análises das curvas, é possível observar que pacientes cujos tumores são bem diferenciados (G1) possuem sobrevidas maiores que pacientes com tumores moderadamente (G2) ou mau diferenciados (G3), com distinção difícil entre esses dois últimos.

Para DMFS, apenas a expressão semiquantitativa de PR ou cHR resultaram independentes após correção por outros fatores pelos métodos *Stepwise* e *Enter*, respectivamente (Tabela 5).

Para OS, o modelo *Stepwise* incluiu tanto Ki-67 quanto a expressão qualitativa de HRs, como significância (Tabela 6). Devido à moderadamente forte a forte correlação entre a expressão semiquantitativa de PR e cHR (rho de Spearman: 0,802, $p < 0,005$), expressão semiquantitativa de PR e expressão qualitativa de HRs (rho de Spearman: 0,553, $p < 0,005$), e entre cHR e expressão qualitativa de HRs (rho de Spearman: 0,667, $p < 0,005$), o segundo modelo incluiu o fator com menor p-valor (cHR), que resultou significativo após a covariação (Tabela 6); análise incluindo expressão semiquantitativa de PR mostrou significância após covariação [HaR ajustado: 0,465 (0,276 – 0,781), $p = 0,004$], inclusive para expressão de Ki-67 [HaR ajustado: 1,803 (1,012 – 3,210), $p = 0,045$].

Tabela 5. Análise de Cox tempo-dependente univariável e multivariável de fatores associados à metástase à distância em pacientes com câncer de mama luminal (n=448)

Fator	Univariável		Multivariável			
			Modelo 1*		Modelo 2#	
	HaR (95%CI)	<i>p</i>	HaR (95%CI)	<i>p</i>	HaR (95%CI)	<i>p</i>
Expressão de Ki-67						
≤12%	1		1		1	
>12%	1,750 (1,039 – 2,946)	0,035	1,192 (0,694 – 2,048)	0,525	1,140 (0,659 – 1,972)	0,640
Expressão semiquantitativa de PR						
≤1+	1		1			
>1+	0,623 (0,386 – 1,004)	0,052	0,440 (0,262 – 0,740)	0,002		
Expressão semiquantitativa de HRs						
≤4+	1				1	
>4+	0,591 (0,371 – 0,942)	0,027			0,524 (0,316 – 0,867)	0,012
Expressão qualitativa de HRs						
Um HR	1					
Dois HR	0,720 (0,417 – 1,243)	0,238				
Grau histológico						0,270
G1	1					
G2	1,710 (0,767 – 3,815)	0,190				
G3	2,208 (0,841 – 5,800)	0,108				
Idade						
≤40 anos	1		1		1	
>40 anos	0,459 (0,233 – 0,904)	0,024	0,400 (0,196 – 0,814)	0,011	0,438 (0,216 – 0,887)	0,022

T			<0,0005	0,002		0,003	
	T1	1		1		1	
	T2-T3	2,521 (1,259 – 5,050)	0,009	1,459 (0,706 – 3,014)	0,308	1,432 (0,689 – 2,976)	0,336
	T4	9,283 (4,244 – 20,034)	<0,0005	3,889 (1,660 – 9,112)	0,002	3,566 (1,522 – 8,355)	0,003
N			<0,0005	<0,0005		<0,005	
	N0	1		1		1	
	N1	2,785 (1,364 – 5,688)	0,005	2,135 (1,020 – 4,471)	0,044	2,281 (1,091 – 4,771)	0,029
	N2	10,242 (5,131 – 20,445)	<0,0005	7,347 (3,591 – 15,031)	<0,0005	6,900 (3,333 – 14,283)	<0,0005
	N3	16,478 (7,418 – 36,599)	<0,0005	14,111 (5,993 – 33,229)	<0,0005	14,054 (5,928 – 33,319)	<0,0005
T_COV		0,946 (0,906 – 0,988)	0,013	0,624 (0,055 – 7,080)	0,525	0,609 (0,040 – 9,230)	0,720

* Modelo de dois blocos: primeiro com método *Stepwise Forward Wald* com p-valores de entrada e saída <0,10 e <0,05, respectivamente.

Modelo incluindo apenas fatores significativos ($p < 0,05$) da análise univariável ou com valor teórico conhecido.

Tabela 6. Análise de Cox tempo-dependente univariável e multivariável de fatores associados à morte em pacientes com câncer de mama luminal (n=448)

Fator	Univariável		Multivariável			
			Modelo 1*		Modelo 2#	
	HaR (95%CI)	<i>p</i>	HaR (95%CI)	<i>p</i>	HaR (95%CI)	<i>p</i>
Expressão de Ki-67						
≤12%	1		1		1	
>12%	2,467 (1,425 – 4,273)	0,001	2,051 (1,173 – 3,587)	0,012	1,753 (0,982 – 3,131)	0,058
Expressão semiquantitativa de PR						
≤1+	1					
>1+	0,530 (0,327 – 0,859)	0,010				
Expressão semiquantitativa de HRs						
≤4+	1				1	
>4+	0,519 (0,321 – 0,840)	0,008			0,486 (0,286 – 0,827)	0,008
Expressão qualitativa de HRs						
Um HR	1		1			
Dois HR	0,534 (0,319 – 0,896)	0,017	0,487 (0,283 – 0,840)	0,010		
Grau histológico						
G1	1				0,249	
G2	2,234 (0,943 – 5,292)	0,068			1,902 (0,769 – 4,703)	0,164
G3	3,601 (1,312 – 9,884)	0,013			2,493 (0,848 – 7,327)	0,097
Idade						
>70 anos	1		1		1	
≥70 anos	1,874 (1,076 – 3,265)	0,027	1,908 (1,052 – 3,461)	0,011	2,051 (1,133 – 3,711)	0,018

T			<0,0005	0,041		0,023	
	T1	1		1		1	
	T2-T3	2,451 (1,225 – 4,903)	0,011	1,660 (0,797 – 3,459)	0,176	1,733 (0,836 – 3,592)	0,139
	T4	6,642 (2,957 – 14,917)	<0,0005	3,046 (1,260 – 7,360)	0,013	3,382 (1,393 – 8,210)	0,007
N			<0,0005	<0,0005		0,001	
	N0	1		1		1	
	N1	2,285 (1,196 – 4,365)	0,012	1,668 (0,852 – 3,263)	0,135	1,552 (0,793 – 3,039)	0,199
	N2	5,209 (2,694 – 10,070)	<0,0005	3,979 (2,002 – 7,911)	<0,0005	3,365 (1,690 – 6,699)	0,001
	N3	6,691 (2,995 – 14,949)	<0,0005	3,871 (1,577 – 9,497)	0,003	3,656 (1,466 – 9,115)	0,005
T_COV		0,946 (0,905 – 0,990)	0,016	0,783 (0,319 – 1,922)	0,594	0,609 (0,040 – 9,230)	0,720

* Modelo de dois blocos: primeiro com método *Stepwise Forward Wald* com p-valores de entrada e saída <0,10 e <0,05, respectivamente.

Modelo incluindo apenas fatores significativos ($p < 0,05$) da análise univariável ou com valor teórico conhecido.

Análises semelhantes foram realizadas utilizando a base de dados SEER, a qual fornece apenas a expressão qualitativa dos receptores hormonais e o grau histológico, além de informações clinicopatológicas como idade, raça, renda familiar anual e TNM. Por análise de regressão de Cox multivariável, observamos que a expressão de apenas um receptor, seja qual ele for, e grau diferente de G1, especialmente o G3, são fatores de pior prognóstico, sendo esse valor prognóstico de grau histológico mais acentuado na sobrevida específica (Tabela 7 e Figura 13).

Tabela 7. Análises univariável e multivariável para sobrevida das pacientes luminais do banco de dados SEER
(n=65.517)

Sobrevida global				
Univariável			Multivariável¹	
Fator	HaR (95%CI)	p	HaR (95%CI)	p
HR				
ER ⁺ /PR ⁺ vs ER ⁺ /PR ⁻	0,577 (0,566 – 0,620)	<0,0005	0,741 (0,688 – 0,799)	<0,0005
ER ⁺ /PR ⁻ vs ER ⁻ /PR ⁺	0,722 (0,593 – 0,880)	0,001	0,835 (0,684 – 1,018)	0,075
Grau histológico				
G1	1		1	
G2	1,409 (1,312 – 1,512)	<0,0005	1,112 (1,034 – 1,196)	0,004
G3	2,743 (2,548 – 2,953)	<0,0005	1,731 (1,595 – 1,878)	<0,0005
Sobrevida específica				
Univariável			Multivariável¹	
Fator	HaR (95%CI)	p	HaR (95%CI)	p
HR				
ER ⁺ /PR ⁺ vs ER ⁺ /PR ⁻	0,385 (0,348 – 0,426)	<0,0005	0,562 (0,507 – 0,624)	<0,0005
ER ⁺ /PR ⁻ vs ER ⁻ /PR ⁺	0,567 (0,448 – 0,719)	<0,0005	0,805 (0,634 – 1,021)	0,073
Grau histológico				
G1	1		1	
G2	2,587 (2,221 – 3,012)	<0,0005	1,639 (1,404 – 1,914)	<0,0005
G3	9,801 (8,468 – 11,343)	<0,0005	3,880 (3,322 – 4,533)	<0,0005

¹Ajustado para idade contínua, raça, renda familiar anual, T, N e proporção entre linfonodos positivos e analisados

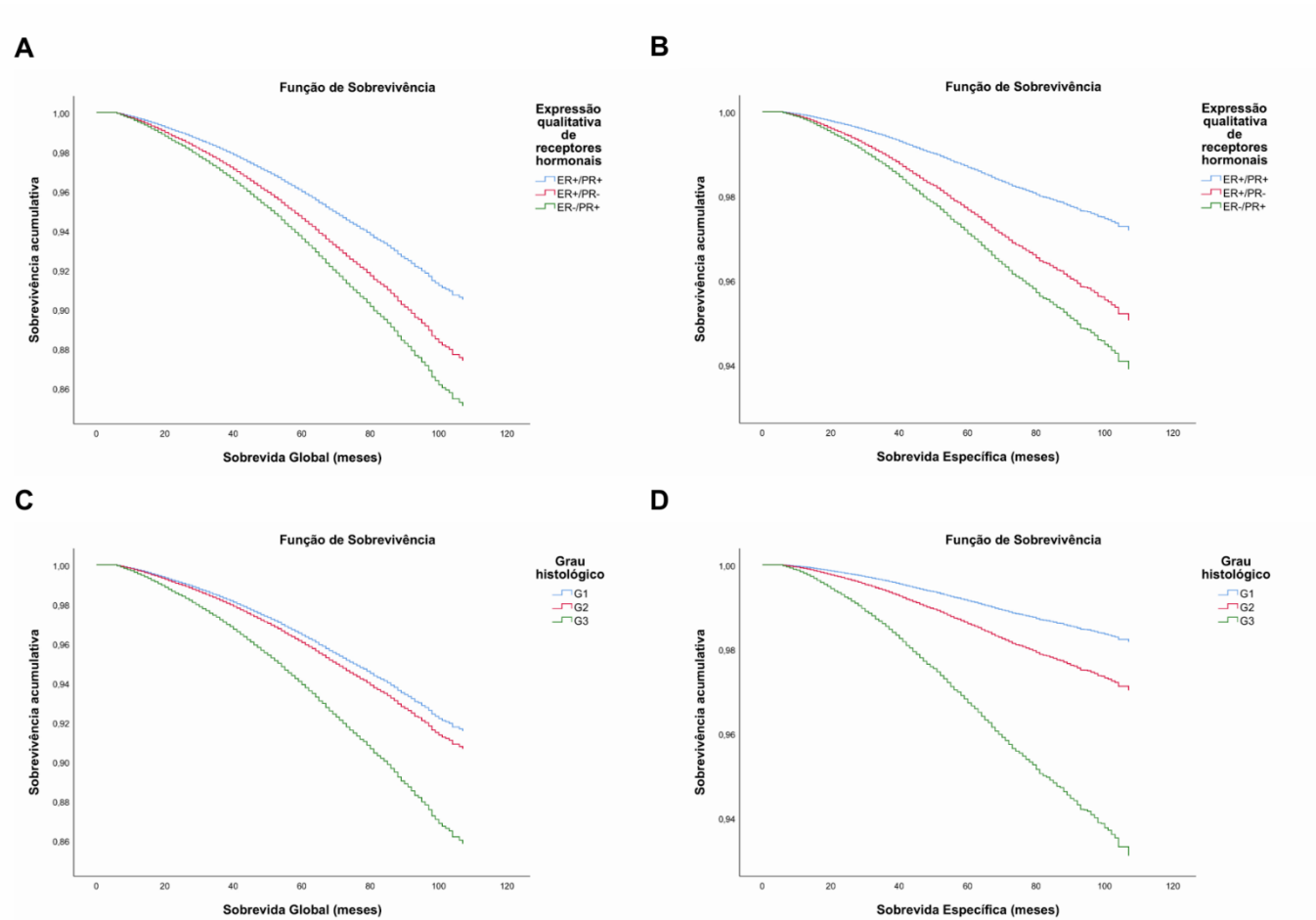


Figura 13. Curvas de sobrevida global e específica ajustadas por análise multivariável de pacientes do SEER. Curva de sobrevida global (A) e específica (B) conforme expressão qualitativa dos receptores hormonais. (B). Curva de sobrevida global (C) e específica (D) conforme grau histológico.

Análises estratificadas permitem a identificação de fatores de modificação de risco

As análises prévias resultaram na inclusão de diferentes fatores de acordo com o desfecho. No entanto, o grau histológico e o índice proliferativo Ki-67 são fatores de risco conhecidos em pacientes com câncer de mama luminal. Visando uma maior segregação dos riscos, foram realizadas análises estratificadas (hierárquicas) para estudar a modificação do efeito por outras variáveis. Como a expressão semiquantitativa de PR e cHR foram variáveis independentes para ambos os desfechos, a hierarquia começou com elas.

Começando pelo nível de expressão semiquantitativo de PR, tanto o Ki-67 quanto o grau histológico mostraram alguma estratificação apenas em pacientes com tumores classificados como $\leq 1+$. Nas análises preliminares, G2 e G3 apresentaram taxas semelhantes para ambos os desfechos, sem diferença estatística pelo teste Log-Rank. Portanto, essas categorias foram agrupadas. O nível de Ki-67 mostrou significância para DMFS (Log-Rank $p=0,003$) e OS (Log-Rank $p=0,007$), e grau histológico para DMFS (Log-Rank $p=0,022$) e OS (Log-Rank $p=0,012$) também. Como não foi observada interação com tempo ($T_COV^* p>0,05$), a regressão de Cox convencional foi realizada pelo método *Stepwise*. O grau histológico (G2/G3 vs G1) resultou independente para OS [HaR ajustado: 7,604 (1,007 – 57,405), $p=0,049$], mas Ki-67 ($>12\%$ vs $\leq 12\%$) para DMFS [HaR ajustado: 4,263 (1,331 – 13,652), $p=0,015$]. O *bootstrapping* corroborou significância ao identificar que os intervalos de confiança não passam pelo ponto de não-efeito [G2/G3 vs G1 (0,345 – 13,909), $p=0,038$; Ki-67 $>12\%$ vs $\leq 12\%$ (0,109 – 12,766), $p<0,001$].

A partir do cHR, tanto o Ki-67 quanto o grau histológico mostraram alguma estratificação apenas em pacientes com tumores classificados como $\leq 4+$. Nas análises preliminares, G2 e G3 apresentaram taxas semelhantes para ambos os desfechos, sem diferença estatística pelo teste Log-Rank. Portanto, essas categorias foram agrupadas. O nível de Ki-67 mostrou significância para DMFS (Log-Rank $p=0,020$) e OS (Log-Rank $p=0,020$), e grau histológico para DMFS (Log-Rank $p=0,047$) e OS (Log-Rank $p=0,017$) também. Como não foi observada interação com tempo ($T_COV^* p>0,05$), a regressão de Cox convencional foi realizada pelo método *Stepwise*. O grau histológico (G2/G3 vs G1) resultou independente para DMFS [HaR ajustado: 4,506 (1,206 – 16,827), $p=0,025$] e OS [HaR ajustado: 7,601 (1,655 – 34,914), $p=0,009$]. O *bootstrapping* corroborou significância do grau histológico com relação a OS [(0,468

– 13,839), $p=0,004$], mas o intervalo de confiança passou pelo ponto de não-efeito para DMFS [(-0,013 – 13,349), mesmo com significância ($p=0,009$) e baixo viés (0,846).

De acordo com os primeiros resultados do subtópico anterior, o cHR apresentou consistência como fator independente para OS e DMFS. Assim, é possível concluir que seria o melhor fator de risco independente para iniciar a hierarquização. Subsequentemente, foi analisado se o Ki-67 poderia resultar em maior discriminação de risco nessas pacientes, mas nenhuma estratificação de risco foi obtida. Após verificar a suposição de proporcionalidade pelas curvas KM, a regressão de Cox dependente do tempo mostrou que as duas primeiras categorias (cHR >4+ e cHR ≤4+ G1) têm valor prognóstico semelhante para DMFS (p ajustado = 0,454) e OS (p ajustado = 0,290), sendo assim agrupados em uma nova variável de dois níveis (cHR >4+/cHR ≤4+ G1 e cHR ≤4+ G2/G3).

Como o grau histológico é um conhecido fator de risco para pacientes com câncer de mama luminais, outra abordagem de estratificação de risco hierárquica foi feita a partir dessa variável. Após verificar a suposição de proporcionalidade pelas curvas KM, a regressão de Cox tempo-dependente mostrou que tanto a expressão semiquantitativa de PR [HaR ajustado: 0,341 (0,182 – 0,639), $p=0,001$] e cHR [HaR ajustado: 0,328 (0,180 – 0,597), $p<0,0005$] são fatores independentes para DMFS, mas mutuamente exclusivos, e apenas para G2. Da mesma forma, a regressão de Cox tempo-dependente mostrou, novamente, que tanto a expressão semiquantitativa de PR [HaR ajustado: 0,327 (0,174 – 0,614), $p=0,001$] e cHR [HaR ajustado: 0,385 (0,201 – 0,737), $p=0,004$] são fatores independentes para DMFS, mas mutuamente exclusivos, e apenas para G2. Nenhuma estratificação adicional foi obtida pelo Ki-67.

Pela regressão multivariável de Cox tempo-dependente, foi possível observar que em ambas as classificações os dois primeiros níveis têm DMFS e OS semelhantes, e os dois últimos níveis têm DMFS e OS semelhantes, mas distintos dos dois primeiros. Assim, foi possível agrupar em categorias de dois níveis para expressão semiquantitativa de PR (G1/G2 PR>1+ e G2 PR ≤1+/G3) e cHR (G1/G2 cHR>4+ e G2 cHR ≤4+/G3).

A última abordagem foi realizada a partir dos níveis de Ki-67. Para Ki-67>12%, tanto a expressão semiquantitativa de PR [HaR ajustado: 0,326 (0,179 – 0,594), $p<0,0005$] como cHR [HaR ajustado: 0,414 (0,229 – 0,823), $p=0,004$] são significativos para DMFS por regressão de Cox tempo-dependente. Novamente, para Ki-67>12%, tanto a expressão semiquantitativa de PR [HaR ajustado: 0,387 (0,215 –

0,700), $p=0,002$] como cHR [HaR ajustado: 0,439 (0,234 – 0,823), $p=0,010$] são significativos para OS por regressão de Cox tempo-dependente. Nenhuma estratificação de risco foi produzida em tumores $Ki-67 \leq 12\%$, nem por grau histológico em análises posteriores. Por meio de modelos de regressão de Cox tempo-dependente, foi possível observar fator de prognóstico semelhante pelos dois primeiros níveis de ambas as classificações para DMFS e OS, possibilitando maior agrupamento.

Em relação à expressão qualitativa dos HRs, as análises estratificadas (hierárquicas), sejam baseadas neste fator ou em outros, não mostraram potencial para segregar riscos, uma vez que as análises por KM e Log-Rank apresentaram p-valores muito elevados.

Identificação de pacientes com risco semelhante àquelas com tumores triplo-negativos

Análises anteriores mostraram estratificação de diferentes maneiras e envolvendo diferentes fatores. No entanto, há alta colinearidade entre alguns desses fatores. As classificações pela expressão semiquantitativa de PR e de ambos receptores hormonais (cHR) classificam de forma semelhante a maioria dos pacientes (Kappa de Cohhen: 0,798, $p<0,005$). E há correlação entre o grau histológico e o Ki-67 (rho de Spearman: 0,317, $p<0,005$), com uma associação moderada (χ^2 de Pearson: 27,244, $p<0,005$) e tamanho de efeito médio (V de Cramer_{df2}: 0,247, $p<0,005$) entre o grau histológico e o ponto de corte do Ki-67.

Nenhuma das classificações por estratificação apresenta 100% de concordância com a outra. Por isso, todos foram analisadas. Como a classificação posterior pelo cHR e grau histológico seguiu a ordem dos fatores encontrados na análise inicial, seu valor na análise multivariável sempre foi calculado em análises posteriores.

Pacientes com câncer triplo-negativo foram adicionadas como um terceiro nível de cada categoria para identificar a melhor estratificação de risco. Como comparação, a classificação dos tumores em Luminal A e B de acordo com a expressão de PR e Ki-67 (Luminal A: $PR \geq 20\%$ e $Ki-67 < 14\%$; Luminal B: $PR < 20\%$ e/ou $Ki-67 \geq 14\%$). Como houve 100% de concordância entre o ponto de corte obtido ($>12\%$) e o descrito na literatura ($\geq 14\%$) (Kappa de Cohen: 1,000, $p<0,005$), o primeiro foi mantido. Como a maioria dos prontuários não informava o percentual de células tumorais expressando PR, esse ponto de corte foi substituído por $PR > 1+$. Alternativamente, a mesma

classificação foi realizada, mas com um corte de Ki-67 modificado para 20%, conforme diretrizes modernas.

O modelo *Stepwise* manteve a estratificação hierárquica de risco por Ki-67 e PR (Tabelas 8 e 9). Embora as classificações semelhantes às atualmente aceitas sejam significativas, as classificações obtidas anteriormente mostraram-se superiores e capazes de identificar pacientes com câncer de mama luminal cujo prognóstico é semelhante ao de pacientes com câncer de mama triplo-negativo (Tabelas 8 e 9).

Tabela 8. Análise de Cox tempo-dependente univariável e multivariável de fatores associados à metástase à distância em pacientes com câncer de mama (n=572)

Fator	Univariável		Multivariável			
	HR (95%CI)	<i>p</i>	Modelo 1*		Modelo 2#	
	HR (95%CI)	<i>p</i>	HaR (95%CI)	<i>p</i>	HaR (95%CI)	<i>p</i>
Estratificação por cHR e grau histológico		<0,0005				
Triplo-negativo	1					
cHR >4+ ou cHR ≤4+ G1	0,393 (0,248 – 0,624)	<0,0005				
cHR ≤4+ G2 ou G3	0,772 (0,468 – 1,273)	0,310				
Estratificação por grau histológico e PR		<0,0005				
Triplo-negativo	1					
G1 ou G2 PR>1+	0,380 (0,237 – 0,610)	<0,0005				
G2 PR ≤1+ou G3	0,743 (0,457 – 1,210)	0,233				
Estratificação por grau histológico e cHR		<0,0005				
Triplo-negativo	1					
G1 ou G2 cHR>4+	0,369 (0,229 – 0,595)	<0,0005				
G2 cHR ≤4+ ou G3	0,745 (0,462 – 1,202)	0,288				
Estratificação por Ki-67 e PR		<0,0005				<0,0005
Triplo-negativo	1				1	
Ki-67 ≤12% ou Ki-67 >12% PR>1+	0,399 (0,254 – 0,627)	<0,0005			0,329 (0,206 – 0,526)	<0,0005

	Ki-67>12% PR≤1+	0,909 (0,535 – 1,545)	0,726		0,810 (0,466 – 1,407)	0,454	
Estratificação por Ki-67 e cHR			<0,0005				
	Tripla-negativo	1					
	Ki-67≤12% ou Ki-67>12%	0,388 (0,246 – 0,613)	<0,0005				
	cHR>4+						
	Ki-67>12% cHR≤4+	0,870 (0,522 – 1,449)	0,592				
Classificação St Gallen (Anterior)			0,002				
	Tripla-negativo	1					
	Ki-67≤12% e PR >1+	0,359 (0,196 – 0,655)	0,001				
	Ki-67>12% e/ou PR ≤1+	0,553 (0,358 – 0,856)	0,008				
Classificação St Gallen (Atual)			0,001	<0,0005			
	Tripla-negativo	1		1			
	Ki-67<20% e PR >1+	0,347 (0,196 – 0,613)	<0,0005	0,334 (0,186 – 0,598)	<0,0005		
	Ki-67≥20% e/ou PR ≤1+	0,583 (0,375 – 0,907)	0,017	0,452 (0,285 – 0,716)	0,001		
Idade							
	≤40 anos	1		1		1	
	>40 anos	0,466 (0,275 – 0,788)	0,004	0,631 (0,366 – 1,087)	0,097	0,600 (0,348 – 1,036)	0,067
T			<0,0005		0,006	0,002	
	T1	1		1		1	
	T2-T3	3,349 (1,766 – 6,351)	<0,0005	1,731 (0,882 – 3,398)	0,111	1,782 (0,917 – 3,466)	0,088
	T4	10,855 (5,313 – 22,180)	<0,0005	3,299 (1,507 – 7,220)	0,003	3,602 (1,669 – 7,776)	0,001
N			<0,0005		<0,0005	<0,0005	

N0	1		1		1	
N1	3,252 (1,885 – 5,613)	<0,0005	2,734 (1,548 – 4,829)	0,001	2,682 (1,525 – 4,717)	0,001
N2	8,038 (4,553 – 14,191)	<0,0005	6,513 (3,546 – 11,960)	<0,0005	6,427 (3,528 – 11,707)	<0,0005
N3	14,185 (7,377 – 27,279)	<0,0005	11,047 (5,439 – 22,436)	<0,0005	12,248 (6,048 – 24,806)	<0,0005
T_COV	0,943 (0,903 – 0,985)	0,008	0,577 (0,052 – 6,390)	0,654	0,591 (0,064 – 5,453)	0,643

*Modelo de dois blocos: primeiro com método *Stepwise Forward Wald* com p-valores de entrada e saída de <0,10 e <0,05, respectivamente, usando fatores conhecidos.

Modelo de dois blocos: primeiro com método *Stepwise Forward Wald* com p-valores de entrada e saída de <0,10 e <0,05, respectivamente.

Tabela 9. Análise de Cox tempo-dependente univariável e multivariável de fatores associados à morte em pacientes com câncer de mama (n=572)

Fator	Univariável		Multivariável			
			Modelo 1*		Modelo 2#	
	HaR (95%CI)	<i>p</i>	HaR (95%CI)	<i>p</i>	HaR (95%CI)	<i>p</i>
Estratificação por cHR e grau histológico		<0,0005				
Triplo-negativo	1					
cHR >4+ ou cHR ≤4+ G1	0,325 (0,205 – 0,515)	<0,0005				
cHR ≤4+ G2 ou G3	0,803 (0,497 – 1,297)	0,370				
Estratificação por grau histológico e PR		<0,0005				
Triplo-negativo	1					
G1 ou G2 PR>1+	0,305 (0,190 – 0,491)	<0,0005				
G2 PR ≤1+ou G3	0,784 (0,493 – 1,248)	0,305				
Estratificação por grau histológico e cHR		<0,0005				
Triplo-negativo	1					
G1 ou G2 cHR>4+	0,307 (0,190 – 0,495)	<0,0005				
G2 cHR ≤4+ ou G3	0,745 (0,470 – 1,181)	0,210				
Estratificação por Ki-67 e PR		<0,0005				<0,0005
Triplo-negativo	1				1	

Ki-67≤12% ou Ki-67>12% PR>1+	0,341 (0,219 – 0,532)	<0,0005		0,246 (0,153 – 0,396)	<0,0005
Ki-67>12% PR≤1+	0,950 (0,571 – 1,580)	0,843		0,740 (0,441 – 1,243)	0,255
Estratificação por Ki-67 e cHR		<0,0005			
Tripla-negativo	1				
Ki-67≤12% ou Ki-67>12% cHR>4+	0,331 (0,210 – 0,520)	<0,0005			
Ki-67>12% cHR≤4+	0,888 (0,542 – 1,454)	0,637			
Classificação St Gallen (Anterior)		<0,0005			
Tripla-negativo	1				
Ki-67≤12% e PR >1+	0,255 (0,135 – 0,481)	0,001			
Ki-67>12% e/ou PR ≤1+	0,548 (0,359 – 0,836)	0,005			
Classificação St Gallen (Atual)		<0,0005	<0,0005		
Tripla-negativo	1		1		
Ki-67<20% e PR >1+	0,240 (0,131 – 0,439)	<0,0005	0,193 (0,103 – 0,360)	<0,0005	
Ki-67≥20% e/ou PR ≤1+	0,598 (0,390 – 0,916)	0,018	0,437 (0,279 – 0,683)	0,001	
Idade					
<70 anos	1		1		1
≥70 anos	1,558 (0,961 – 2,525)	0,072	1,689 (1,017 – 2,804)	0,043	1,919 (1,159 – 3,178)
T		<0,0005		0,003	0,002

	T1	1		1		1	
	T2-T3	3,332 (1,760 – 6,308)	<0,0005	2,210 (1,137 – 4,299)	0,019	2,207 (1,139 – 4,275)	0,019
	T4	9,120 (4,429 – 18,781)	<0,0005	3,903 (1,772 – 8,596)	0,001	4,120 (1,872 – 9,068)	<0,0005
N			<0,0005		<0,0005		<0,0005
	N0	1		1		1	
	N1	2,354 (1,430 – 3,874)	0,001	1,816 (1,082 – 3,046)	0,024	1,872 (1,119 – 3,130)	0,017
	N2	4,590 (2,669 – 7,897)	<0,0005	3,976 (2,228 – 7,096)	<0,0005	3,918 (2,212 – 6,940)	<0,0005
	N3	7,175 (3,791 – 13,580)	<0,0005	5,039 (2,466 – 10,299)	<0,0005	5,501 (2,671 – 11,329)	<0,0005
T_COV		0,944 (0,906 – 0,984)	0,007	0,725 (0,303 – 1,734)	0,469	0,727 (0,298 – 1,771)	0,482

*Modelo de dois blocos: primeiro com método *Stepwise Forward Wald* com p-valores de entrada e saída de <0,10 e <0,05, respectivamente, usando fatores conhecidos.

Modelo de dois blocos: primeiro com método *Stepwise Forward Wald* com p-valores de entrada e saída de <0,10 e <0,05, respectivamente.

No entanto, a primeira abordagem resultou em uma boa estratificação de risco e identificação de pacientes com tumores luminais com prognóstico semelhante àquelas com tumores de mama triplo-negativo para DMFS [cHR $\leq 4+$ G2 ou G3 vs triplo-negativo, HaR ajustado: 0,703 (0,415 – 1,189), p=0,189] e OS [cHR $\leq 4+$ G2 ou G3 vs triplo-negativo, HaR ajustado: 0,662 (0,403 – 1,088), p=0,104].

A segunda abordagem também resultou em uma boa estratificação de risco e identificação de pacientes com tumores luminais com prognóstico semelhante àqueles com tumores de mama triplo-negativos para DMFS [G2 PR $\leq 1+$ ou G3 vs triplo negativo, HaR ajustado: 0,650 (0,385 – 1,095), p=0,106], com uma tendência a diferença para OS [G2 PR $\leq 1+$ ou G3 vs triplo-negativo, HaR ajustado: 0,628 (0,387 – 1,019), p=0,059].

Da mesma forma, a terceira abordagem resultou em uma boa estratificação de risco e identificação de pacientes com tumores luminais com prognóstico semelhante àqueles com tumores de mama triplo-negativo para DMFS [G2 cHR $\leq 4+$ ou G3 vs triplo-negativo, HaR ajustado: 0,654 (0,394 – 1,086), p=0,101], mas não para OS [G2 cHR $\leq 4+$ ou G3 vs triplo-negativo, HaR ajustado: 0,603 (0,373 – 0,973), p=0,038].

E por último, a quinta abordagem resultou em uma boa estratificação de risco e identificação de pacientes com tumores luminais com prognóstico semelhante àqueles com tumores de mama triplo-negativo para DMFS [Ki-67 > 12% cHR $\leq 4+$ vs triplo-negativo, ajustado HaR: 0,691 (0,406 – 1,174), p=0,172] e OS [Ki-67 > 12% cHR $\leq 4+$ vs triplo-negativo, HaR ajustado: 0,695 (0,416 – 1,161), p=0,165].

As curvas KM das três abordagens com valor prognóstico superior estão representadas nas Figuras 14 a 16.

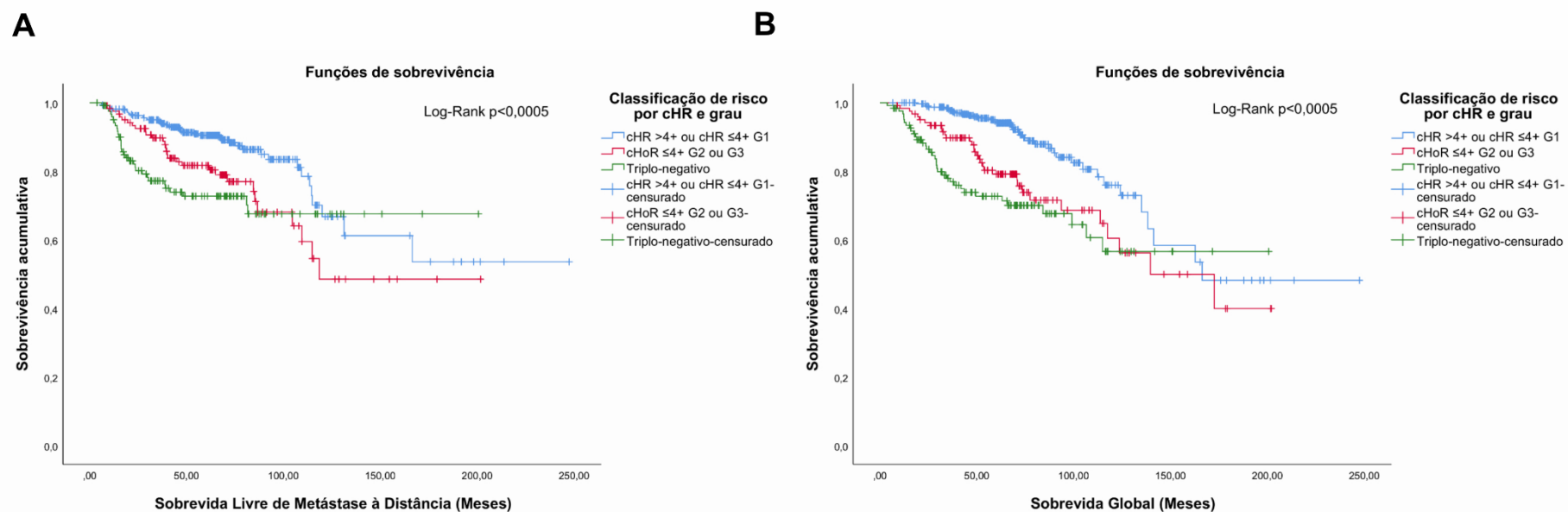


Figura 14. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com a estratificação de risco subsequente por cHR e grau histológico. (A) Sobrevida livre de metástases à distância. (B) Sobrevida global. Por análises das curvas, é possível observar que pacientes cujos tumores expressam maiores índices de cHR(>4+) ou são bem diferenciados (G1), mesmo que expressam menores índices de cHR(≤4+) e são moderadamente (G2) ou mau (G3) diferenciados; estas últimas possuem sobrevidas indistintas às pacientes com tumores triplo-negativos. Um total de 572 pacientes foram incluídas.

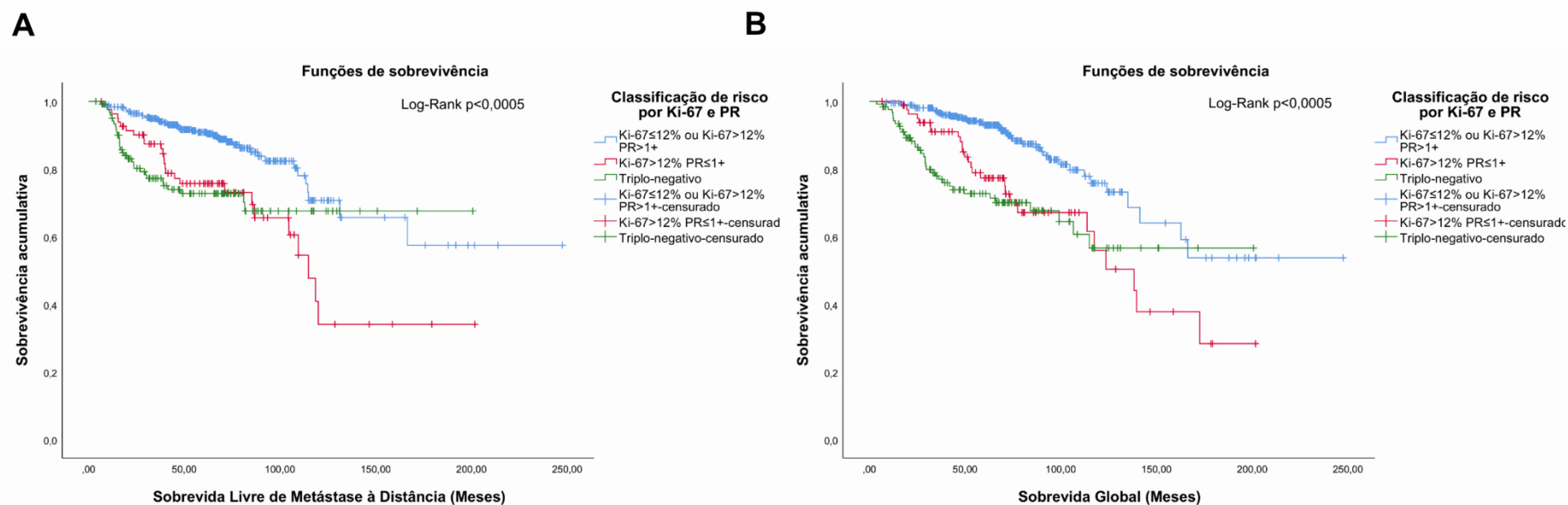


Figura 15. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com a estratificação de risco subsequente por Ki-67 e expressão semiquantitativa do receptor de progesterona (PR). (A) Sobrevida livre de metástases à distância. (B) Sobrevida global. Por análises das curvas, é possível observar que pacientes cujos tumores expressam menores índices proliferativos (Ki-67 \leq 12%) ou altos índices proliferativos (Ki-67 $>$ 12%), mas com altos índices de PR ($>$ 1+), possuem sobrevidas maiores que pacientes cujos tumores expressam altos índices proliferativos (Ki-67 $>$ 12%) com baixos índices de PR (\leq 1+); estas últimas possuem sobrevidas indistintas às pacientes com tumores triplo-negativos. Um total de 572 pacientes foram incluídas.

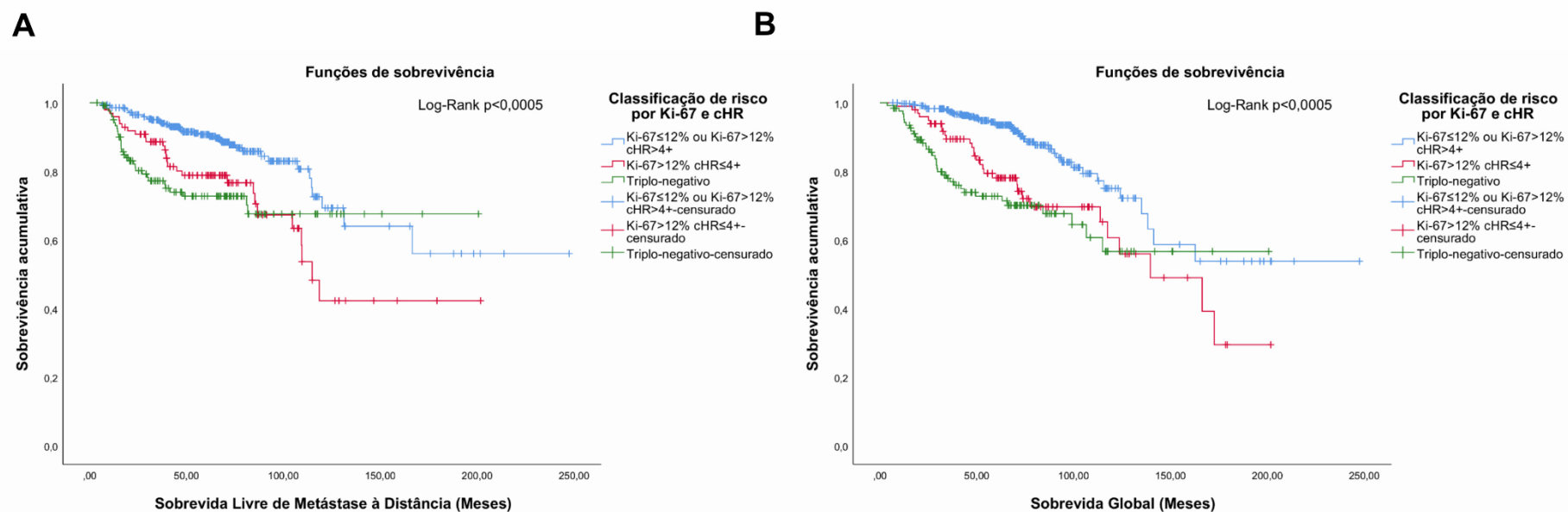


Figura 16. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com a estratificação de risco subsequente por Ki-67 e expressão semiquantitativa combinada dos receptores hormonais (cHR). (A) Sobrevida livre de metástases à distância. (B) Sobrevida global. Por análises das curvas, é possível observar que pacientes cujos tumores expressam menores índices proliferativos (Ki-67 $\leq 12\%$) ou altos índices proliferativos (Ki-67 $> 12\%$), mas com altos índices de cHR ($> 4+$), possuem sobrevidas maiores que pacientes cujos tumores expressam altos índices proliferativos (Ki-67 $> 12\%$) com baixos índices de cHR ($\leq 4+$); estas últimas possuem sobrevidas indistintas às pacientes com tumores tripla-negativos. Um total de 572 pacientes foram incluídas.

Fatores associados ao aumento da chance de metástase e morte em pacientes com esquema adjuvante

Devido ao impacto que o tratamento neoadjuvante tem na expressão e prognóstico de biomarcadores, foram realizadas análises no subconjunto de pacientes que receberam apenas regimes adjuvantes para testar estratificações semelhantes (n=358). Diferentemente da grande variedade de possibilidades de hierarquias no conjunto total de pacientes com tumores luminiais incluídos, a estratificação baseada no grau histológico permitiu discriminar subgrupos com prognósticos semelhantes em análises tempo-dependentes. No segundo nível da hierarquia, foi possível observar que o Ki-67 promoveu discriminação prognóstica em pacientes com doença grau G1/G2 para DMFS (Log-Rank $p=0,022$) e OS (Log-Rank $p=0,044$), sendo o único biomarcador significativo na análise multivariável para DMFS [HaR ajustado: 1,998 (1,019 – 3,915), $p=0,043$], mas não significativo para OS [HaR ajustado: 1,635 (0,838 – 3,193), $p=0,150$].

Em seguida, foi testado se a expressão semiquantitativa de receptores hormonais pode levar a uma melhor discriminação, e uma resposta positiva foi observada tanto para PR (DMFS Log-Rank $p=0,004$; OS Log-Rank $p=0,036$) e cHR (DMFS Log-Rank $p=0,006$; OS Log-Rank $p=0,015$), mas apenas nos casos com $Ki-67 > 12\%$. Já sem a dependência do tempo, observou-se que PR e cHR são independentes e superiores para DMFS [HaR ajustado: 0,337 (0,155 – 0,730), $p=0,006$] e OS [HaR ajustado: 0,417 (0,189 – 0,921), $p=0,031$], respectivamente, com apenas uma tendência para OS [HaR ajustado: 0,498 (0,234 – 1,058), $p=0,070$] e DMFS [HaR ajustado: 0,507 (0,244 – 1,053), $p=0,069$], respectivamente. Esses achados foram corroborados por *bootstrapping*, sendo que o intervalo de confiança não passou pelo ponto de não-efeito para a expressão semiquantitativa de PR sobre DMFS [(-2,260 – -0,115), $p=0,018$] e de cHR para OS [(-1,850 – -0,149), $p=0,039$].

Posteriormente, foram realizadas análises multivariáveis para testar a possibilidade de realização de agrupamentos. Ambas as estratégias de classificação de risco mostraram-se significativas para DMFS e OS. Por meio do contraste repetido, foi possível observar uma clara distinção entre o segundo e terceiro grupo para ambas as estratégias nos dois desfechos testados (dados não apresentados). Portanto, os dois primeiros e os dois últimos grupos foram agrupados. Essas classificações têm um grau de concordância alto, mas incompleto (Kappa de Cohen: 0,876, $p < 0,0005$) entre si.

As Figuras 17 e 18 representam as curvas KM para essas pacientes, incluindo as pacientes com câncer de mama triplo-negativo de esquema adjuvante como grupo comparador.

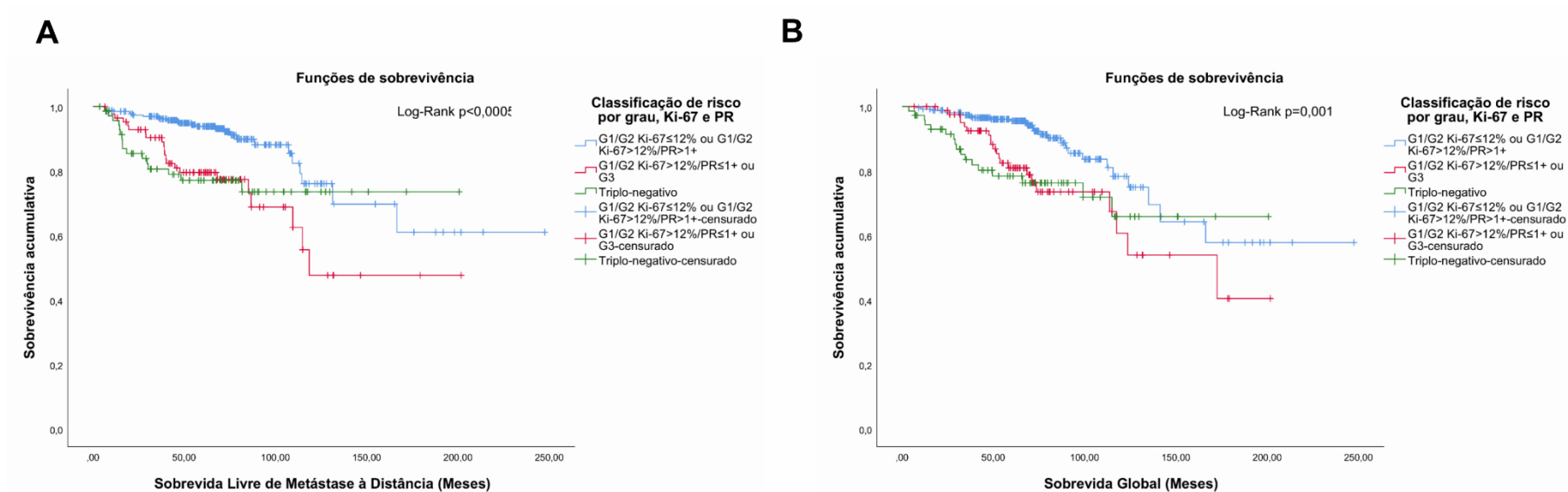


Figura 17. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com a estratificação de risco subsequente por grau histológico, Ki-67 e expressão semiquantitativa do receptor de progesterona (PR). (A) Sobrevida livre de metástases à distância. (B) Sobrevida global. Por análises das curvas, é possível observar que pacientes cujos tumores são bem (G1) ou moderadamente (G2) diferenciados, que expressam menores índices proliferativos (Ki-67 \leq 12%) ou altos índices proliferativos (Ki-67 $>$ 12%), mas com altos índices de PR ($>$ 1+), possuem sobrevidas maiores que pacientes cujos tumores são bem (G1) ou moderadamente (G2) diferenciados, expressam altos índices proliferativos (Ki-67 $>$ 12%) com baixos índices de PR (\leq 1+) ou são mau diferenciados (G3); estas últimas possuem sobrevidas indistintas às pacientes com tumores triplo-negativos. Um total de 431 pacientes foram incluídas.

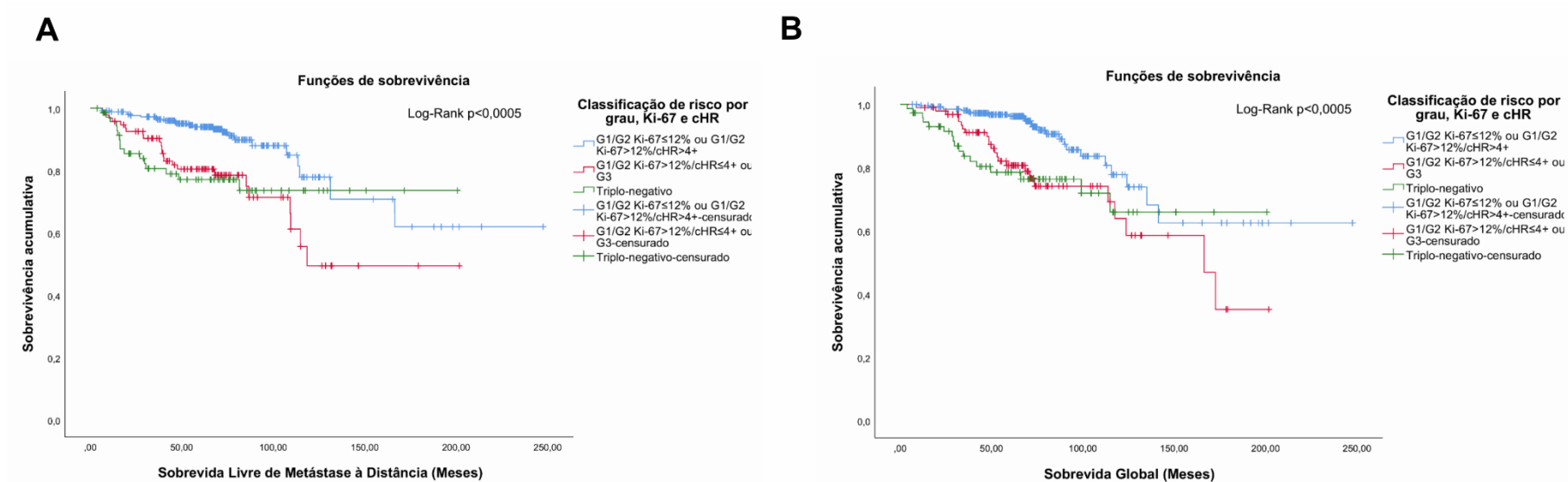


Figura 18. Curvas de sobrevida acumulada pelo estimador de Kaplan-Meier de acordo com a estratificação de risco subsequente por grau histológico, Ki-67 e expressão semiquantitativa de ambos receptores hormonais (cHR). (A) Sobrevida livre de metástases à distância. (B) Sobrevida global. Por análises das curvas, é possível observar que pacientes cujos tumores são bem (G1) ou moderadamente (G2) diferenciados, que expressam menores índices proliferativos (Ki-67 \leq 12%) ou altos índices proliferativos (Ki-67 $>$ 12%), mas com altos índices de cHR ($>$ 4+), possuem sobrevidas maiores que pacientes cujos tumores são bem (G1) ou moderadamente (G2) diferenciados, expressam altos índices proliferativos (Ki-67 $>$ 12%) com baixos índices de cHR (\leq 4+) ou são mau diferenciados (G3); estas últimas possuem sobrevidas indistintas às pacientes com tumores triplo-negativos. Um total de 431 pacientes foram incluídas.

O ajuste para tratamentos não altera o valor prognóstico das classificações de risco

Posteriormente foi analisado se os tratamentos poderiam ser um fator de confusão. Mas primeiro, foi testado em que contexto a quimioterapia resulta em um melhor prognóstico para pacientes com câncer luminal, a fim de melhorar a classificação do tratamento sistêmico.

Pacientes com câncer de mama luminal em regime adjuvante foram segregadas de acordo com biomarcadores e foi avaliado se a quimioterapia implica em melhor prognóstico, uma vez que as análises com todas as pacientes não demonstraram benefício potencial da quimioterapia. Como pode ser uma modificação do efeito, a operação * foi realizada entre pN (N0, N1 e N2/N3) e quimioterapia (Não e Sim).

Dentre os biomarcadores, o único que apresentou valor “preditivo” foi o Ki-67. Foi possível observar que o pN é o principal fator associado ao menor DMFS. Observou-se que pN2/N3 é um fator de alto risco associado ao DMFS [vs pN0, HaR ajustado: 20,778 (6,532 – 66,092) $p < 0,0005$] e a quimioterapia modifica o efeito no pN2/N3 [HaR ajustado: 0,093 (0,010 – 0,833) $p = 0,034$], mas não de pN1 ($p = 0,610$). Tal modificação de efeito também foi observada em relação à OS para pN2/N3 [HaR ajustado: 0,103 (0,014 – 0,743) $p = 0,024$], mas não de pN1 ($p = 0,858$). Também, a quimioterapia foi observada como o único fator associado à OS [HaR: 0,263 (0,092 – 0,752) $p = 0,013$] em pacientes com doença pN2/N3 e Ki-67 > 12%, com tendência para DMFS em associação a radioterapia para DMFS [HaR ajustado: 0,346 (0,115 – 1,045) $p = 0,060$].

Em relação às classificações de risco, apenas as duas últimas apresentaram valor “preditivo” do benefício da quimioterapia, mas apenas para OS. Em pacientes com doença pN2/N3, observou-se que há modificação de efeito da quimioterapia pelas classificações G1/G2 Ki-67 > 12%/cHR ≤ 4+ ou G3 [HaR ajustado: 0,043 (0,002 – 0,758) $p = 0,032$], ou G1/G2 Ki-67 > 12%/PR ≤ 1+ ou G3 [HaR ajustado: 0,039 (0,002 – 0,725) $p = 0,030$]. No entanto, uma tendência de benefício da quimioterapia foi observada apenas para o primeiro grupo [HaR: 0,252 (0,060 – 1,064) $p = 0,061$] em análise dentro do subgrupo pN2/N3.

Portanto, o tratamento sistêmico foi recategorizado com base no resultado anterior, atribuindo a classificação de tratamento adequado às pacientes sempre que receberam hormonioterapia, e se recebeu quimioterapia se e apenas se tivessem doença pN2/3 e Ki-67 > 12%, que resultou superior à classificação inicial de acordo com as diretrizes de St Gallen.

Finalmente, os modelos foram ajustados para incluir tratamentos apenas com regime adjuvante. Para isso, foi considerado o tempo desde o término das terapias adjuvantes (quimioterapia ou radioterapia) até o evento ou censura; pacientes que desenvolveram eventos durante a terapia adjuvante (quimioterapia ou radioterapia) foram excluídas. Um total de 419

pacientes foram incluídas nas análises. Dois modelos usando a abordagem de dois blocos foram construídos. O primeiro modelo incluiu todas as classificações de risco do primeiro bloco; o segundo modelo foi realizado excluindo no primeiro bloco a classificação de risco obtida no primeiro modelo.

As estratificações com Ki-67 no primeiro nível hierárquico continuaram estatisticamente superiores às demais, mesmo em comparação às descritas na literatura, com mudança de PR no segundo nível hierárquico referente a DMFS para cHR no segundo nível hierárquico para OS (Tabelas 10 e 11). No entanto, o segundo modelo tanto para DMFS quanto para OS concordou na estratificação de risco sequencial por grau histológico, Ki-67 e cHR como fator independente e superior aos demais (Tabelas 10 e 11).

As estratificações de risco envolvendo apenas o grau histológico e a expressão semiquantitativa do(s) receptor(es) hormonal(is), independentemente da ordem, não resultaram em boa identificação de pacientes com câncer luminal cujo prognóstico é semelhante ao triplo-negativo. Em relação ao DMFS, a segunda categoria de estratificação subsequente por cHR e grau, grau e PR, e grau e cHR, apresentaram melhor prognóstico do que tumores triplo-negativo com p-valores de 0,034 [HaR ajustado: 0,415 (0,184 - 0,937)], 0,064 [HaR ajustado: 0,473 (0,214 - 1,045)] e 0,050 [HaR ajustado: 0,456 (0,209 - 0,999)], respectivamente. Em relação à OS, a segunda categoria de estratificação subsequente por cHR e grau, grau e PR e grau e cHR, apresentaram prognóstico semelhante a tumores triplo-negativo com p-valores de 0,336 [HaR ajustado: 0,704 (0,344 - 1,440)], 0,374 [HaR ajustado: 0,721 (0,350 - 1,484)] e 0,333 [HaR ajustado: 0,706 (0,349 - 1,429)], respectivamente.

Tabela 10. Análises univariável e multivariável de Cox tempo-dependente dos fatores associados com a metástase à distância em pacientes com câncer de mama na corrigido para tratamentos adjuvantes (n=419)

Fator	Univariável		Multivariável			
	HR (95%CI)	<i>p</i>	Modelo 1*		Modelo 2#	
	HR (95%CI)	<i>p</i>	HR (95%CI)	<i>p</i>	HR (95%CI)	<i>p</i>
Estratificação por cHR e grau histológico		0,090				
Triplo-negativo	1					
cHR >4+ ou cHR ≤4+ G1	0,500 (0,259 – 0,964)	0,039				
cHR ≤4+ G2 ou G3	0,795 (0,387 – 1,632)	0,532				
Estratificação por grau histológico e PR		0,038				
Triplo-negativo	1					
G1 ou G2 PR>1+	0,466 (0,240 – 0,905)	0,024				
G2 PR ≤1+ou G3	0,874 (0,434 – 1,761)	0,706				
Estratificação por grau histológico e cHR		0,045				
Triplo-negativo	1					
G1 ou G2 cHR>4+	0,465 (0,238 – 0,909)	0,025				
G2 cHR ≤4+ ou G3	0,841 (0,421 – 1,682)	0,625				
Estratificação por Ki-67 e PR		0,002		<0,0005		
Triplo-negativo	1		1			

Ki-67 \leq 12% ou Ki-67 $>$ 12%	0,436 (0,227 – 0,839)	0,013	0,234 (0,112 - 0,489)	<0,0005
PR $>$ 1+				
Ki-67 $>$ 12% PR \leq 1+	1,242 (0,605 – 2,549)	0,555	0,711 (0,318 – 1,593)	0,408
Estratificação por Ki-67 e		0,004		
cHR				
Tripló-negativo	1			
Ki-67 \leq 12% ou Ki-67 $>$ 12%	0,427 (0,220 – 0,830)	0,012		
cHR $>$ 4+				
Ki-67 $>$ 12% cHR \leq 4+	1,105 (0,549 – 2,224)	0,781		
Estratificação por grau, Ki-		0,003		
67 e PR				
Tripló-negativo	1			
G1/G2 Ki-67 \leq 12% ou G1/G2	0,418 (0,214 – 0,815)	0,011		
Ki-67 $>$ 12%/PR $>$ 1+				
G1/G2 Ki-67 $>$ 12%/PR \leq 1+ ou	1,108 (0,554 – 2,215)	0,773		
G3				
Estratificação por grau, Ki-		0,001		0,001
67 e cHR				
Tripló-negativo	1		1	
G1/G2 Ki-67 \leq 12% ou G1/G2	0,394 (0,200 – 0,776)	0,007	0,240 (0,114 – 0,506)	<0,0005
Ki-67 $>$ 12%/cHR $>$ 1+				
G1/G2 Ki-67 $>$ 12%/cHR \leq 1+	1,118 (0,567 – 2,204)	0,748	0,520 (0,238 – 1,132)	0,099
ou G3				

Classificação St Gallen		0,176					
(Anterior)							
	Triplo-negativo	1					
	Ki-67≤12% e PR >1+	0,486 (0,222 – 1,061)	0,070				
	Ki-67>12% e/ou PR ≤1+	0,634 (0,335 – 1,201)	0,162				
Classificação St Gallen		0,150					
(Atual)							
	Triplo-negativo	1					
	Ki-67<20% e PR >1+	0,475 (0,224 – 1,008)	0,053				
	Ki-67≥20% e/ou PR ≤1+	0,656 (0,345 – 1,250)	0,200				
Idade							
	≤40 anos	1	1	1			
	>40 anos	0,385 (0,186 – 0,794)	0,010	0,639 (0,289 – 1,410)	0,267	0,685 (0,312 – 1,502)	0,345
T			<0,0005		0,021		0,042
	T1	1	1	1			
	T2-T3	3,650 (1,775 – 7,506)	<0,0005	2,675 (1,188 – 6,023)	0,017	2,499 (1,122 – 5,566)	0,025
	T4	12,876 (4,296 – 38,591)	<0,0005	5,911 (1,503 – 23,252)	0,011	4,509 (1,179 – 17,245)	0,028
N			<0,0005		<0,0005		<0,0005
	N0	1	1	1			
	N1	3,765 (1,845 – 7,680)	<0,0005	2,896 (1,359 – 6,170)	0,006	2,961 (1,394 – 6,290)	0,005
	N2/N3	11,772 (5,842 – 23,719)	<0,0005	10,877 (4,836 – 24,465)	<0,0005	11,182 (4,948 – 25,721)	<0,0005
Tratamento sistêmico							
	Inadequado	1	1	1			

Adequado	0,345 (0,169 – 0,707)	0,004	0,715 (0,310 – 1,649)	0,432	0,942 (0,389 – 2,280)	0,894
Radioterapia						
Inadequada	1		1		1	
Adequada	0,625 (0,267 – 1,465)	0,279	0,224 (0,083 – 0,604)	0,003	0,221 (0,083 – 0,585)	0,002
T_COV	0,937 (0,877 – 1,001)	0,054	0,413 (0,023 – 7,354)	0,547	0,418 (0,027 – 6,574)	0,535

*Modelo de dois blocos: primeiro com método *Stepwise Forward Wald* com p-valores de entrada e saída <0,10 e <0,05, respectivamente; segundo bloco com método inserir.

#Semelhante ao primeiro modelo, mas excluindo a classificação de risco obtida no modelo prévio.

Tabela 11. Análises univariável e multivariáveis de Cox tempo-dependente dos fatores associados com a morte em pacientes com câncer de mama na corrigido para tratamentos adjuvantes (n=419)

Fator	Univariável		Multivariável			
	HR (95%CI)	<i>p</i>	Modelo 1*		Modelo 2#	
	HR (95%CI)	<i>p</i>	HR (95%CI)	<i>p</i>	HR (95%CI)	<i>p</i>
Estratificação por cHR e grau histológico		0,015				
Triplo-negativo	1					
cHR >4+ ou cHR ≤4+ G1	0,479 (0,249 – 0,924)	0,028				
cHR ≤4+ G2 ou G3	1,061 (0,539 – 2,087)	0,864				
Estratificação por grau histológico e PR		0,019				
Triplo-negativo	1					
G1 ou G2 PR>1+	0,484 (0,251 – 0,933)	0,030				
G2 PR ≤1+ou G3	1,043 (0,530 – 2,055)	0,902				
Estratificação por grau histológico e cHR		0,012				
Triplo-negativo	1					
G1 ou G2 cHR>4+	0,462 (0,237 – 0,900)	0,023				
G2 cHR ≤4+ ou G3	1,044 (0,537 – 2,031)	0,899				
Estratificação por Ki-67 e PR		0,006				
Triplo-negativo	1					
Ki-67≤12% ou Ki-67>12% PR>1+	0,494 (0,261 – 0,936)	0,030				
Ki-67>12% PR≤1+	1,270 (0,624 – 2,586)	0,510				
Estratificação por Ki-67 e cHR		0,001		0,002		
Triplo-negativo	1		1			

Ki-67 \leq 12% ou Ki-67 $>$ 12% cHR $>$ 4+	0,445 (0,231 – 0,858)	0,016	0,308 (0,150 – 0,635)	0,001		
Ki-67 $>$ 12% cHR \leq 4+	1,302 (0,662 – 2,561)	0,445	0,770 (0,373 – 1,588)	0,479		
Estratificação por grau, Ki-67 e PR		0,006				
Triplo-negativo	1					
G1/G2 Ki-67 \leq 12% ou G1/G2 Ki-67 $>$ 12%/PR $>$ 1+	0,475 (0,248 – 0,911)	0,025				
G1/G2 Ki-67 $>$ 12%/PR \leq 1+ ou G3	1,170 (0,590 – 2,322)	0,652				
Estratificação por grau, Ki-67 e cHR		0,001			0,001	
Triplo-negativo	1			1		
G1/G2 Ki-67 \leq 12% ou G1/G2 Ki-67 $>$ 12%/cHR $>$ 1+	0,429 (0,221 – 0,835)	0,013		0,291 (0,139 – 0,608)	0,001	
G1/G2 Ki-67 $>$ 12%/cHR \leq 1+ ou G3	1,251 (0,643 – 2,433)	0,510		0,761 (0,374 – 1,550)	0,452	
Classificação St Gallen (Anterior)		0,131				
Triplo-negativo	1					
Ki-67 \leq 12% e PR $>$ 1+	0,447 (0,202 – 0,985)	0,046				
Ki-67 $>$ 12% e/ou PR \leq 1+	0,754 (0,404 – 1,409)	0,376				
Classificação St Gallen (Atual)		0,060				
Triplo-negativo	1					
Ki-67 $<$ 20% e PR $>$ 1+	0,411 (0,190 – 0,891)	0,024				
Ki-67 \geq 20% e/ou PR \leq 1+	0,811 (0,433 – 1,581)	0,512				
Idade						
$<$ 70 anos	1		1		1	
\geq 70 anos	1,856 (1,022 – 3,370)	0,042	1,914 (1,007 – 3,639)	0,048	1,924 (1,013 – 3,654)	0,045
T		$<$ 0,0005		0,029		0,024
T1	1		1		1	

	T2-T3	3,108 (1,555 – 6,213)	0,001	2,357 (1,113 – 4,990)	0,025	2,412 (1,141 – 5,100)	0,021
	T4	13,088 (4,417 – 38,782)	<0,0005	4,867 (1,323 – 17,908)	0,017	5,129 (1,387 – 18,970)	0,014
N			<0,0005		0,001		0,001
	N0	1		1		1	
	N1	2,356 (1,262 – 4,398)	0,007	1,887 (0,983 – 3,623)	0,056	1,833 (0,955 – 3,519)	0,068
	N2/N3	5,840 (3,083 – 11,062)	<0,0005	4,381 (2,074 – 9,257)	<0,0005	5,129 (1,387 – 18,970)	<0,0005
Tratamento sistêmico							
	Inadequado	1		1		1	
	Adequado	0,252 (0,130 – 0,487)	<0,0005	0,818 (0,365 – 1,836)	0,626	0,816 (0,364 – 1,832)	0,623
Radioterapia							
	Inadequada	1		1		1	
	Adequada	0,524 (0,224 – 1,224)	0,135	0,317 (0,126 – 0,801)	0,015	0,309 (0,122 – 0,782)	0,013
T_COV		0,936 (0,879 – 0,996)	0,036	0,656 (0,206 – 2,091)	0,476	0,656 (0,204 – 2,105)	0,479

*Modelo de dois blocos: primeiro com método *Stepwise Forward Wald* com p-valores de entrada e saída <0,10 e <0,05, respectivamente; segundo bloco com método inserir.

#Semelhante ao primeiro modelo, mas excluindo a classificação de risco obtida no modelo prévio.

As classificações de risco se associam com fatores de agressividade

Utilizando apenas as pacientes de esquema adjuvante, foi analisado se os fatores de risco e as classificações de risco se associam com fatores de agressividade tumoral. Para tal, foi realizada regressão logística ordinal com a metástase linfonodal (pN) como classificador e regressão logística binária com a invasão linfovascular como classificador.

Por regressão logística ordinal univariável, grau histológico, cHR, expressão semiquantitativa de PR nem a expressão qualitativa de HRs se mostraram significativos ($p > 0,05$) para a classificação de metástase linfonodal, mas apenas pT e Ki-67, tanto contínuo como o ponto de corte $> 12\%$.

Por outro lado, as classificações por grau e expressão semiquantitativa de PR ($p = 0,016$), grau e cHR ($p = 0,014$), Ki-67 e expressão semiquantitativa de PR ($p = 0,004$), Ki-67 e cHR ($p = 0,001$), e as estratificações subsequentes por grau, Ki-67 e PR ($p < 0,0005$) ou cHR ($p < 0,0005$) sim. Em todas as análises os pré-requisitos de adequação de ajuste (Person e desvio semelhantes) e linhas paralelas ($p > 0,05$) foram atingidos. Devido a limitações da regressão, apenas três modelos multivariável foram elaborados.

O primeiro modelo mostrou que tanto pT quanto Ki-67 contínuo são significativos (Tabela 12), e apresentou um bom ajuste (log -2:293,036, $p < 0,0005$), com adequação do ajuste aceitável (Pearson $p = 0,699$; Desvio $p = 0,973$), rejeição da hipótese nula do teste de linhas paralelas ($p = 0,883$) e sem sobredispersão (valor/df: 0,827).

O segundo modelo mostrou que, em associação a pT, a classificação de risco por grau, Ki-67 e expressão semiquantitativa de PR se associa com a metástase linfonodal (Tabela 12). O modelo apresentou um bom ajuste (log -2:81,525, $p < 0,0005$), com adequação do ajuste aceitável (Pearson $p = 0,176$; Desvio $p = 0,229$), rejeição da hipótese nula do teste de linhas paralelas ($p = 0,919$) com uma leve sobredispersão (valor/df: 1,232). De maneira geral, o modelo se mostra aceitável mas inferior ao primeiro modelo.

O terceiro e último modelo mostrou que, em associação a pT, a classificação de risco por grau, Ki-67 e cHR se associa com a metástase linfonodal (Tabela 12). O modelo apresentou um bom ajuste (log -2:82,462, $p < 0,0005$), com adequação do ajuste aceitável (Pearson $p = 0,236$; Desvio $p = 0,194$), rejeição da hipótese nula do teste de linhas paralelas ($p = 0,798$) com uma leve sobredispersão (valor/df: 1,232). De maneira geral, o modelo se mostra aceitável mas inferior ao primeiro modelo.

O *bootstrapping* corroborou os achados dos modelos, mas se observou que, no primeiro modelo, para Ki-67 o intervalo de confiança parte do ponto de não efeito, apesar de não passar por ele (0,000 – 0,026), apesar de ser significativo ($p = 0,033$) e ter baixo viés (0,001).

Tabela 12. Análises univariável e multivariáveis de regressão logística ordinal dos fatores associados com metástase linfonodal em câncer de mama luminal (n=358)

Fator	Multivariável					
	Modelo 1		Modelo 2		Modelo 3	
	OR (95%CI)	<i>p</i>	OR (95%CI)	<i>p</i>	OR (95%CI)	<i>p</i>
Limite						
pN1	4,303 (2,764 – 6,700)	<0,0005	3,964 (2,672 – 5,880)	<0,0005	4,033 (2,711 – 5,999)	<0,0005
pN2	20,894 (12,324 – 35,425)	<0,0005	19,701 (12,091 – 32,103)	<0,0005	20,106 (12,297 – 32,873)	<0,0005
pN3	95,522 (47,064 – 193,876)	<0,0005	91,948 (46,398 – 182,216)	<0,0005	93,974 (47,274 – 186,807)	<0,0005
Ki-67 (contínuo)	1,012 (1,001 – 1,024)	0,039				
T						
T1	1		1			
T2	3,604 (2,243 – 5,788)	<0,0005	3,527 (2,192 – 5,677)	<0,0005	3,510 (2,180 – 5,650)	<0,0005
T3	5,216 (2,193 – 14,408)	<0,0005	5,087 (2,168 – 11,937)	<0,0005	5,186 (2,212 – 12,159)	<0,0005
T4	19,102 (5,641 – 64,692)	<0,0005	20,852 (6,204 – 70,085)	<0,0005	19,238 (5,758 – 64,275)	<0,0005
Estratificação por grau, Ki-67 e PR						
G1/G2 Ki-67≤12% ou G1/G2 Ki-67>12%/PR>1+			1			
G1/G2 Ki-67>12%/PR≤1+ ou G3			2,100 (1,300 – 3,394)	0,002		
Estratificação por grau, Ki-67 e cHR						
G1/G2 Ki-67≤12% ou G1/G2 Ki-67>12%/cHR>1+					1	
G1/G2 Ki-67>12%/cHR≤1+ ou G3					2,097 (1,317 – 3,339)	0,002

Posteriormente foram analisados fatores associados com invasão linfovascular. Foram incluídas apenas as 158 pacientes com relato de invasão linfovascular e condição de p53.

A análise univariável identificou apenas algumas classificações de risco como significativas, sendo apenas as que incorporam grau histológico na sua estrutura (Tabela 13). Com relação aos marcadores separados, apenas G3 e cHR apresentaram associação com invasão linfovascular, mas com significância limítrofe (Tabela 13). Já a mutação de p53 mostrou uma forte associação com a invasão linfovascular (Tabela 13). Posteriormente, foram elaborados dois modelos multivariável para obter as variáveis independentemente associadas com a invasão linfovascular.

Do primeiro modelo foi obtido pT, mutação de p53 e a classificação por grau histológico e expressão semiquantitativa de PR como independentes (Tabela 13). Foi observado ganho de explicação com as variáveis (teste omnibus χ^2 : 26,706, $p < 0,005$) com bom ajuste do modelo (teste Hosmer-Lemeshow $p = 0,936$), mas sem ganho de explicação do penúltimo para último passo (teste omnibus χ^2 : 7,656, $p = 0,054$), que inseriu a variável pT no modelo.

Do segundo modelo foi obtido pT, mutação de p53 e a classificação por grau histológico e cHR como independentes (Tabela 13). Foi observado ganho de explicação com as variáveis (teste omnibus χ^2 : 25,644, $p < 0,005$) com bom ajuste do modelo (teste Hosmer-Lemeshow $p = 0,889$), com ganho de explicação do penúltimo para último passo (teste omnibus χ^2 : 7,215, $p = 0,027$), que inseriu a variável pT no modelo.

Retirando essas duas variáveis de classificação de risco do modelo, a que foi mantida como significativa para invasão linfovascular foi a estratificação subsequente por grau, Ki-67 e cHR [G1/G2 Ki-67 > 12%/cHR ≤ 4+ ou G3 vs G1/G2 Ki-67 ≤ 12% ou G1/G2 Ki-67 > 12%/cHR > 4+, OR ajustado para p53 e tamanho de tumor: 2,539 (1,234 – 5,224), $p = 0,011$]. Observando-se ganho de explicação do modelo final (teste omnibus χ^2 : 21,465, $p < 0,005$) com bom ajuste do modelo (teste Hosmer-Lemeshow $p = 0,622$), com ganho de explicação do penúltimo para último passo (teste omnibus χ^2 : 6,032, $p = 0,049$), que inseriu a variável pT no modelo.

O *bootstrapping* corroborou os achados dos três modelos, mostrando que os intervalos de confiança não passam pelo ponto de não-efeito, mas apenas aguçando os achados para pT4, mostrando também alto viés ($> 6,000$)

Tabela 13. Análises univariável e multivariáveis de regressão logística binária dos fatores associados com invasão linfovascular em câncer de mama luminal (n=158)

Fator	Univariável		Multivariável			
			Modelo 1*		Modelo 2#	
	OR (95%CI)	<i>p</i>	OR (95%CI)	<i>p</i>	OR (95%CI)	<i>p</i>
Ki-67 (contínuo)		1,011 (0,992 – 1,031)		0,259		
Ki-67 (categórico)						
	Ki-67≤12%	1				
	Ki-67>12%	1,350 (0,711 – 2,564)		0,359		
Grau histológico						
	G1	1				
	G2	0,923 (0,401 – 2,123)		0,850		
	G3	3,306 (0,987 – 11,070)		0,053		
Mutação de p53						
	Não	1	1		1	
	Sim	2,564 (1,335 – 4,924)	2,858 (1,420 – 5,755)	0,003	2,909 (1,444 – 5,862)	0,003
T						
	T1	1	1		1	
	T2-T3	1,927 (0,976 – 3,804)	2,313 (1,107 – 4,843)	0,026	2,293 (1,099 – 4,784)	0,027
	T4	8,211 (0,858 – 78,594)	7,916 (0,716 – 87,511)	0,092	8,128 (0,738 – 89,538)	0,087
Expressão qualitativa de HRs						
	Um	1				
	Dois	0,899 (0,423 – 1,912)		0,782		
Expressão semiquantitativa de PR (categórico)						
	≤1+	1				
	>1+	0,642 (0,330 – 1,249)		0,192		

Expressão semiquantitativa de HRs (categórico)					
	≤4+	1			
	>4+	0,527 (0,276 – 1,008)	0,053		
Estratificação por cHR e grau histológico					
	cHR >4+ ou cHR ≤4+ G1	1			
	cHR ≤4+ G2 ou G3	1,958 (0,982 – 3,905)	0,056		
Estratificação por grau histológico e PR					
	G1 ou G2 PR>1+	1		1	
	G2 PR ≤1+ ou G3	2,968 (1,504 – 5,860)	0,002	3,432 (1,642 – 7,172)	0,001
Estratificação por grau histológico e cHR					
	G1 ou G2 cHR>4+	1			1
	G2 cHR ≤4+ ou G3	2,788 (1,427 – 5,444)	0,003		3,261 (1,579 – 6,734) 0,001
Estratificação por Ki-67 e PR					
	Ki-67≤12% ou Ki-67>12% PR>1+	1			
	Ki-67>12% PR≤1+	1,495 (0,703 – 3,176)	0,296		
Estratificação por Ki-67 e cHR					
	Ki-67≤12% ou Ki-67>12% cHR>4+	1			
	Ki-67>12% cHR≤4+	1,725 (0,842 – 3,531)	0,136		
Estratificação por grau, Ki-67 e PR					
	G1/G2 Ki-67≤12% ou G1/G2 Ki-67>12%/PR>1+	1			
	G1/G2 Ki-67>12%/PR≤1+ ou G3	2,501 (1,254 – 4,987)	0,009		
Estratificação por grau, Ki-67 e cHR					
	G1/G2 Ki-67≤12% ou G1/G2 Ki-67>12%/cHR>1+	1			
	G1/G2 Ki-67>12%/cHR≤1+ ou G3	2,491 (1,259 – 4,930)	0,009		

*Modelo com método *Stepwise Forward Wald* com p-valores de entrada e saída <0,10 e <0,05, respectivamente.

#Semelhante ao primeiro modelo, mas excluindo a classificação de risco obtida no modelo prévio

Identificação de perfis de agressividade tumoral

Por fim, foram realizadas análises de componentes principais categóricas (ACPC) com o objetivo de obter perfis tumorais. Para otimização das análises, o Ki-67 foi discretizado em 10 níveis (1-10, 11-20, 21-30, 31-40, 41-50, 51-60, 61-70, 71-80, 81-90, 91-100), obtendo assim uma variável ordinal.

Inicialmente, foram incluídas as variáveis pT, pN, grau histológico, expressão semiquantitativa de ER, expressão semiquantitativa de PR e Ki-67, para extração de apenas duas dimensões. Pela análise de transformadas, foi possível reduzir as categorias de Ki-67 para 1-10, 20-40, 41-80 e 81-100, e da expressão semiquantitativa de ambos HRs para 0-2+, 3+ e 4+, tanto para ER quanto para PR.

A ACPC mostrou uma área de elipse de 0,116, sendo o grau histológico o que mais contribuiu para a incerteza (0,334, comparado com $<0,2$ para pT, pN e Ki-67, e $<0,05$ para a expressão semiquantitativa de ambos HRs). Há uma confiabilidade alta para o modelo [α de Cronbach: 0,826 (0,807 – 0,843)], mas baixa para as dimensões 1 [α de Cronbach: 0,516 (0,435 – 0,584)] e 2 [α de Cronbach: 0,374 (0,276 – 0,457)]. Porém, ambas dimensões demonstraram um eigenvalue maior que 1 [dimensão 1: 1,756 (1,569 – 1,949); dimensão 2: 1,453 (1,298 – 1,615)].

A análise de cargas (massas) mostra uma associação positiva maior da Dimensão 1 com pT, pN, Ki-67 e grau histológico, apesar de menor para este, e uma associação negativa com a expressão semiquantitativa de ambos HRs. Por outro lado, há uma associação positiva da Dimensão 2 com todas as variáveis, sendo bem menor ($<0,3$) com pT, pN, Ki-67 e grau histológico, mas grande ($>0,7$) para com a expressão semiquantitativa de ambos HRs.

Pelo gráfico de conjunto de pontos de categoria é possível observar pelo menos dois perfis bem definidos de cânceres : os que menores (pT1), são bem diferenciados (G1) com baixo índice proliferativo (Ki-67 \leq 10%) e sem metástase linfonodal (pN0), e os que são maiores (pT3-T4), mau diferenciados (G3), com índice proliferativo muito alto (41-100%) e apresentam metástase em \geq 4 linfonodos (pN2/N3) (Figura 19A). Um terceiro perfil parece se mostrar, sendo composto por tumores de tamanho intermediário (pT2), moderadamente diferenciados (G2), índice proliferativo moderado a alto (11-40%), metástase até 3 linfonodos (pN1), no qual também uma expressão semiquantitativa moderada (3+) de ambos receptores parece ser parte do perfil (Figura 19A).

Por fim, outra ACPC foi realizada com as mesmas variáveis, mas foi inserida a invasão linfovascular, sem permitir imputação de dados. A análise de transformadas mostrou

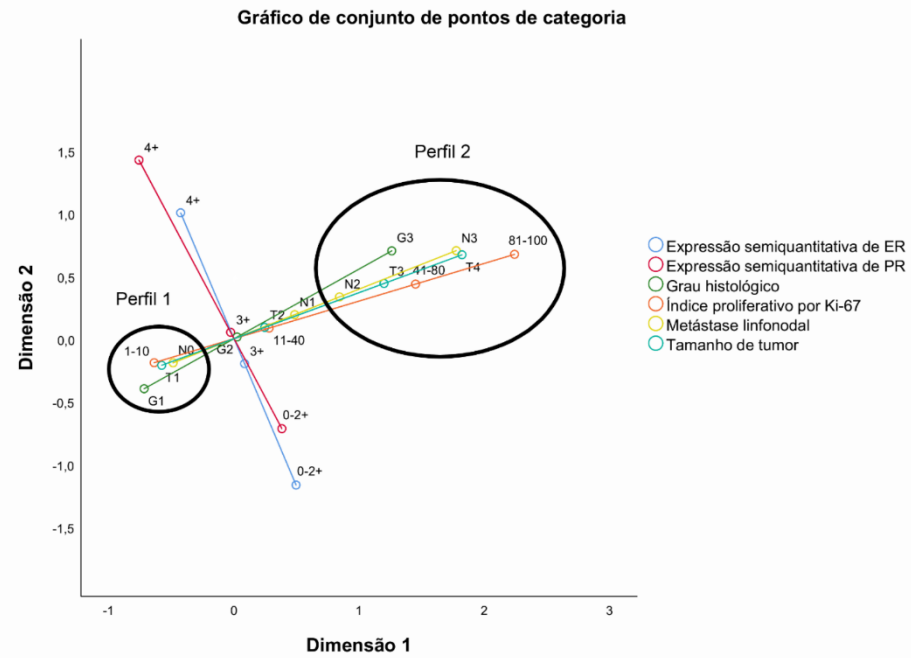
colapsamentos das categorias de forma muito semelhante à ACPC anterior. Por esse motivo, as mesmas categorizações foram utilizadas.

A ACPC mostrou uma área de elipse de 0,199, sendo novamente grau histológico o que mais contribuiu para a incerteza (0,734), seguido do índice proliferativo por Ki-67 (0,301) e pT (0,438). Há uma confiabilidade alta para o modelo [α de Cronbach: 0,843 (0,821 – 0,864)], mas baixa para as dimensões 1 [α de Cronbach: 0,592 (0,516 – 0,655)] e 2 [α de Cronbach: 0,427 (0,340 – 0,506)]. Porém, ambas dimensões demonstraram um eigenvalue maior que 1 [dimensão 1: 2,032 (1,792 – 2,278); dimensão 2: 1,578 (1,412 – 1,767)].

A análise de cargas (massas) mostra uma associação positiva maior da Dimensão 1 com pT, pN, Ki-67 e grau histológico, apesar de menor para este, e uma associação negativa com a expressão semiquantitativa de ambos HRs. Por outro lado, há uma associação positiva da Dimensão 2 com todas as variáveis, sendo bem menor (<0,2) com pT, pN, Ki-67 e grau histológico, mas grande (>0,8) para com a expressão semiquantitativa de ambos HRs.

Pelo gráfico de conjunto de pontos de categoria é possível observar os mesmos perfis tumorais (Figura 19B). Soma-se ao primeiro perfil de baixa agressividade a ausência de invasão linfovascular, sendo que a presença de invasão linfovascular se encontra entre os outros dois perfis, porém mais próximo daquele de maior agressividade (Figura 19B).

A



B

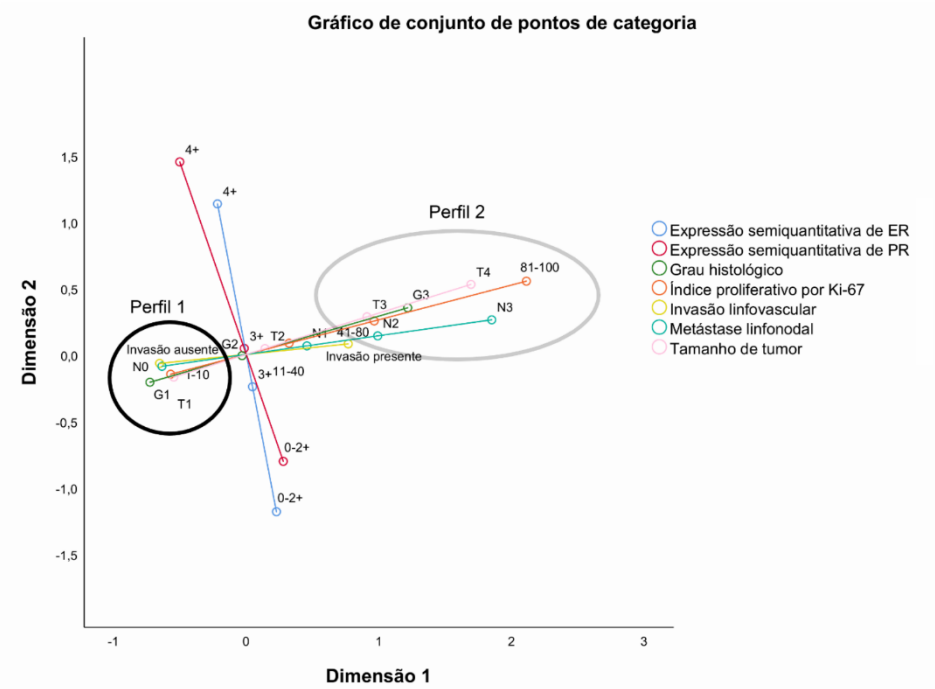


Figura 19. Perfis tumorais pela análise de conjuntos de categorias. Todas as pacientes com câncer de mama luminal de esquema apenas adjuvante ($n=358$) (A) e o subgrupo que possuía a invasão linfovascular realçada ($n=198$) (B).

DISCUSSÃO

A identificação de casos de câncer de mama luminal com alto risco de desenvolvimento de metástase é fundamental para uma correta decisão terapêutica (COATES *et al.*, 2015; GOLDBIRSCHE *et al.*, 2013). No entanto, o único teste prognóstico e preditivo atualmente disponível com grau 1A de evidência tanto para decisão terapêutica como para estadiamento é o teste genômico Oncotype Dx (AMIN *et al.*, 2017; GIULIANO *et al.*, 2018; PAIK *et al.*, 2004), o qual é caro.

O índice proliferativo por Ki-67 e grau histológico são bem estabelecidos fatores prognóstico no câncer de mama luminal (BUSTREO *et al.*, 2016; EHINGER *et al.*, 2017; GNANT *et al.*, 2011; INWALD *et al.*, 2013; LAIBLE *et al.*, 2019; LIANG *et al.*, 2020; ONO *et al.*, 2017; VIALE *et al.*, 2019; WISHART *et al.*, 2014). Estudos têm demonstrado consecutiva estratificação de risco em casos de câncer luminal por Ki-67 (GOLDBIRSCHE *et al.*, 2013; GOLDBIRSCHE *et al.*, 2011), com posterior ganho prognóstico por segregação de acordo com a expressão semiquantitativa de RR (PRAT *et al.*, 2013), e a unificação com grau histológico continua sendo uma dificuldade (BURSTEIN *et al.*, 2019; COATES *et al.*, 2015; GOLDBIRSCHE *et al.*, 2013). Ehinger *et al.* (EHINGER *et al.*, 2017) observaram que, em pacientes com tumores luminais ER⁺, a expressão semiquantitativa de PR e Ki-67 discriminam o prognóstico apenas em tumores moderadamente diferenciados (G2).

Além disso, embora outros estudos apontem o índice Ki-67 como critério de segregação de risco em tumores G2 (ALESKANDARANY *et al.*, 2011; RAKHA *et al.*, 2010), Liang *et al.* (2020) observaram prognóstico semelhante entre pacientes com tumores G3 e tumores G1 e G2 com alta expressão de Ki-67 em relação a recidivas. Foi possível incorporar esses três fatores, mas apenas em pacientes em regime adjuvante, com estratificação hierárquica por grau histológico, Ki-67 e, finalmente, a expressão semiquantitativa de ambos os receptores hormonais, ou apenas do receptor de progesterona.

Mesmo com esses resultados, o caminho de estratificação que a análise inicial apontou foi outro, promovendo estratificação consecutiva pela expressão semiquantitativa de ambos os receptores hormonais (cHR) e posteriormente pelo grau histológico, mostrando prognóstico semelhante entre as doenças G2 e G3 com baixa expressão de ambos os receptores hormonais. No entanto, essa estratificação não resultou em uma boa segregação de risco para DMFS em pacientes com esquema adjuvante, assim como foi observado para a estratificação consecutiva pelo grau histológico, índice de proliferação por Ki-67 seguido de cHR. Adicionalmente, mesmo com baixo viés e significância, o *bootstrapping* corroborou outros caminhos de

estratificação, especialmente os que se iniciam com o grau histológico, e não esse, dando força para os demais.

Interessantemente, todas as classificações obtidas nas análises mostraram-se superiores à classificação de câncer de mama luminal atualmente aceita (Luminal A e B) (COATES *et al.*, 2015; GOLDBIRSCHE *et al.*, 2013). No entanto, devido à limitação em relatar a expressão de receptores hormonais, foi feita apenas uma aproximação. De fato, a categoria PR >1+ usada representa tumores com mais de 10% de células expressantes (SANNINO; SHOUSA, 1994; SHOUSA; PESTON, 1997), o que é um viés para fazer comparações apropriadas.

Mesmo que a classificação incorporando níveis de Ki-67 e PR se mostrou superior em vários aspectos interessantes, as classificações incorporando cHR respeitam alguns fundamentos teóricos. Por exemplo, tumores luminais que expressam apenas o PR são mais agressivos, sendo um fator de pior prognóstico para recidivas e óbito, mesmo quando comparados aos casos ER⁺/PR⁻ (BAE *et al.*, 2015; FAN *et al.*, 2015; LI, Y. *et al.*, 2020; LI, Z. *et al.*, 2020; ZHAO; GONG, 2021). Além disso, uma meta-análise recente demonstrou que tumores com baixa expressão de ER (1-10%) têm uma resposta endócrina prejudicada (ALLISON *et al.*, 2020), uma característica típica de tumores luminais mais agressivos (BURSTEIN, 2020). Assim, a classificação incorporando cHR qualificou naturalmente os tumores com baixa expressão de ER e expressão de apenas um receptor hormonal como semelhantes, embora essa abordagem não seja amplamente validada.

Outro fator teórico importante é como se dá a interação entre os receptores. Em tumores responsivos ao estrogênio, o PR é expresso como uma resposta ao último via ER (KUNC *et al.*, 2018), com modificação subsequente da rede de interação do ER e expressão de diferentes genes-alvo de forma feedforward (MOHAMMED *et al.*, 2015). Em consonância com isso, observamos que tumores com baixa expressão de ER provavelmente expressam baixos níveis de PR, enquanto tumores com alta expressão de ER expressam altos níveis de PR, sugerindo que esse efeito provavelmente ocorre de maneira dose-dependente. Assim, a expressão semiquantitativa de ambos os HRs poderia responder por parte da biologia altamente intrincada dos cânceres de mama, como observamos para ambos os desfechos estudados, e respeita o fato de que a expressão qualitativa do HR é um fator prognóstico mais importante para OS.

Além disso, uma expressão de ambos os receptores hormonais, não apenas PR, correlaciona-se com o Oncotype Recurrence Score (BASKOTA *et al.*, 2021; BHARGAVA *et al.*, 2020; FLANAGAN *et al.*, 2008), e tem valor prognóstico para metástases à distância pelo modelo preditivo IHC4 (CUZICK *et al.*, 2011), que tem valor prognóstico semelhante ao Oncotype Dx para metástases precoces (até 5 anos) (CUZICK *et al.*, 2011; SESTAK *et al.*,

2018; SGROI *et al.*, 2013). Diferentemente do relatado por Ethier *et al.* (2018), dados obtidos do SEER mostram que a expressão de apenas PR não é um fator prognóstico comparável à expressão de ambos receptores, mas é um fator de mau prognóstico quase pior que a expressão de apenas ER, o que justifica termos agrupado ambas pacientes com expressão de apenas um receptor hormonal (ER⁺/PR⁻ e ER⁻/PR⁺). Assim, há suporte científico mais do que suficiente para analisar a expressão semiquantitativa de ambos os receptores como fator prognóstico, e é versátil ao permitir tanto a segregação do risco para metástases à distância quanto o potencial estadiamento para sobrevida global, ao contrário da expressão qualitativa que é um conhecido fator de estadiamento para sobrevida global (HORTOBAGYI *et al.*, 2017), como também se observou nas análises iniciais.

Estudos genéticos com painéis distintos mostram segregação do grau histológico em dois graus genéticos (baixo e alto), os quais têm valor prognóstico superior ao grau histológico (METZGER FILHO *et al.*, 2011). Interessantemente, há um alto grau de concordância entre o grau histológico G1 e o grau genético baixo e o grau histológico G3 com o grau genético alto, mas uma alta segregação no grau histológico G2 entre esses ambos graus genéticos (IVSHINA *et al.*, 2006; SOTIRIOU *et al.*, 2006). De fato, o grau histológico é a classificação com maior discordância entre os três (DALTON *et al.*, 1994; ELLIS *et al.*, 2006; LONGACRE *et al.*, 2006) e alguns estudos sugerem que o índice proliferativo pode promover uma distinção prognóstica justamente no G2 (ALESKANDARANY *et al.*, 2011; RAKHA *et al.*, 2010). Esses dados reforçam os nossos achados.

Em outro estudo do grupo de Sotiriou (LOI *et al.*, 2007) foi observado que os graus genéticos baixo e alto conseguem segregar as pacientes PR⁺ conforme a responsividade endócrina e proliferação celular, onde o grau genético baixo possui menor proliferação e maior responsividade endócrina. Observamos que a expressão semiquantitativa faz uma eficiente segregação do fator de risco, mas apenas nas pacientes G2 com alto índice proliferativo por Ki-67, o que finalmente definiu as pacientes luminais em dois grupos, o que está em harmonia com o estudo de Arima *et al.* (2019), no qual observaram que em pacientes luminais (HER2⁻) a expressão de PR não acrescenta fator prognóstico nas pacientes com baixo índice proliferativo por Ki-67, mas a alta expressão de PR ($\geq 20\%$) contrabalança parcialmente o efeito negativo do alto índice proliferativo por Ki-67. Assim, a segregação das pacientes em G2 pelo índice proliferativo e a expressão dos receptores hormonais no possibilitou encontrar pacientes com prognóstico semelhante às G1 ou G3 que classificamos como baixo (Luminal A) e alto risco (Luminal B).

O baixo número amostral de pacientes com tumores G3 nos impediu de avaliar se esses outros dois fatores fariam alguma segregação de riscos. Porém, Ehinger *et al.* (2017) observaram que pacientes com câncer de mama luminais (ER⁺/HER2⁻) de grau histológico G3 possuem um fator prognóstico semelhante independentemente se são classificadas como Luminal A ou B baseado no índice proliferativo de Ki-67 e expressão qualitativa de PR. De fato, é um consenso que o grau histológico elevado (G3) é fator de pior prognóstico nas pacientes Luminal A (GOLDHIRSCH *et al.*, 2013). Também, conforme supracitado, há uma alta concordância entre os graus G1 e G3 com seus respectivos graus genéticos (IVSHINA *et al.*, 2006; SOTIRIOU *et al.*, 2006).

Neste estudo, o grau histológico e o índice proliferativo Ki-67 mostraram-se mutuamente exclusivos em diversas análises. Uma possibilidade é a correlação que existe entre eles (INWALD *et al.*, 2013), pois o índice mitótico é um dos critérios de classificação do sistema Nottingham (ELSTON; ELLIS, 1991; RAKHA *et al.*, 2008). Outra possibilidade são as alterações que a quimioterapia neoadjuvante provoca no microambiente tumoral e na seleção de subclones com diferentes fenótipos, causando alterações na expressão de receptores hormonais, índice mitótico e Ki-67 (ABDEL-FATAH *et al.*, 2019; ABDEL-FATAH *et al.*, 2020; JONES *et al.*, 2009; LEE *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2019; LIM *et al.*, 2016), o que pode explicar porque foi possível incorporar o grau histológico e o Ki-67 apenas em pacientes em regime adjuvante, mas não no grupo que inclui aquelas em regime neoadjuvante. Porém, alguns casos têm expressão *de novo* de receptores hormonais ou diminuição de proliferação, o que promove melhora prognóstica (ABDEL-FATAH *et al.*, 2019; ABDEL-FATAH *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2019). Interessantemente, a diminuição de Ki-67 e perda da expressão de PR são os eventos mais frequentemente observados (ABDEL-FATAH *et al.*, 2019; LEE *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2019). No entanto, muitas das pacientes que realizaram quimioterapia neoadjuvante incluídas no nosso estudo não foram retestadas quanto aos marcadores imunohistoquímicos posterior à neoadjuvância, o que dificulta a compreensão das diferenças nas análises. Uma possível explicação é a simples redução de eventos pela exclusão destas pacientes.

Mesmo mostrando a superioridade da segregação prognóstica na incorporação dos três parâmetros analisados (grau histológico, Ki-67 e expressão semiquantitativa de receptores hormonais), ter apresentado outros modelos de estratificação é interessante para algumas situações. Por exemplo, as diretrizes de tratamento aprovadas para o sistema público de saúde no Brasil tornam obrigatória a avaliação do grau histológico e a identificação dos três importantes receptores tumorais, mas não o Ki-67 (SAÚDE, 2019).

Um fator interessante relacionado ao estudo desses biomarcadores é o potencial benefício da quimioterapia. Embora o foco principal não fosse a descoberta de um sistema de classificação preditiva para o benefício da quimioterapia, foi possível observar que o Ki-67 é o melhor fator preditivo para essa resposta, mas apenas em pacientes com doença pN2/N3. Isso está de acordo com dados da literatura, que mostram que o Ki-67 é o melhor preditor de resposta à quimioterapia em pacientes com câncer de mama luminal (CRISCITIELLO *et al.*, 2014; DOWSETT *et al.*, 2011). Curiosamente, pôde-se observar que pacientes com doença G1/G2 Ki-67>12%/cHR≤4+ ou G3 apresentam uma modificação do efeito da quimioterapia quando há envolvimento de 4 ou mais linfonodos (pN2/N3) para OS. De fato, o ER(α) sabidamente promove resistência à quimioterapia (LIM; WINER, 2011; SUI *et al.*, 2011). Também, há evidências de que pacientes com tumores de bom risco biológico (baixo grau histológico, baixa proliferação e expressão aumentada de receptores hormonais) têm pouco ou nenhum benefício com a quimioterapia, mesmo na presença de linfonodos metastáticos, mas o contrário é verdadeiro (BURSTEIN, 2020). Assim, essa classificação hierárquica pode até ajudar na tomada de decisão clínica para o tratamento.

Outro importante achado foi a associação das classificações de risco com fatores de agressividade tumoral, como a metástase linfonodal e invasão linfovascular. A metástase linfonodal é um dos principais fatores de estadiamento e de risco de recidivas e óbitos nas pacientes com câncer de mama (COATES *et al.*, 2015; GOLDBIRSCHE *et al.*, 2013; GOLDBIRSCHE *et al.*, 2007; HORTOBAGYI *et al.*, 2018). Mesmo que as modelagens apontaram uma adesão melhor apenas com o tamanho de tumor e o índice proliferativo por Ki-67, as estratificações de risco, especialmente as que incorporam Ki-67, como a subsequente por grau histológico, Ki-67 e cHR, mostrou ser um fator associado com a metástase linfonodal, algo novo na literatura. No entanto, o achado mais relevante foi com relação à invasão linfovascular.

Apesar da invasão linfovascular anteceder a metástase linfonodal (VAN DEN EYNDEN *et al.*, 2006) e haver um alto grau de correlação entre elas, (KUROZUMI *et al.*, 2019; SHEN *et al.*, 2015), a maioria das metástases à distância procedem diretamente do tumor primário e não dos depósitos tumorais nos linfonodos acometidos no câncer de mama (VENET; FIMERELI; ROTHÉ; *et al.*, 2020). Assim, a invasão linfovascular pode informar um processo independente da metástase linfonodal. De fato, a invasão linfovascular qualitativa, independentemente de sua extensão, é um fator de pior prognóstico em pacientes com doença N- (HE *et al.*, 2017; RAKHA; MARTIN; *et al.*, 2012; TRUONG *et al.*, 2005), tornando-a comparável à classificação N1 (RAKHA; MARTIN; *et al.*, 2012), e em pacientes com doença N+ (RAGAGE *et al.*, 2010; YILDIRIM; BERBEROGLU, 2007) ou classificações de alto risco,

que também são N+ (EJLERTSEN *et al.*, 2009). Achados esses que foram reproduzidos na coorte incluída neste estudo, onde se observou que a invasão é um fator independente de metástase à distância em pacientes com doença tanto N- como N+ (DA LUZ *et al.*, 2022). Tamanha a importância que recentemente foi incluído como critério de decisão terapêutica pelo consenso St Gallen independentemente da sua extensão (BURSTEIN *et al.*, 2019).

No entanto, análises histopatológicas podem ser apenas um retrato “dentro dentro de um filme”. Uma vez que a invasão linfovascular é um processo dinâmico, nem sempre pode ser capturado no momento da análise anatomopatológica. Por isso a importância de avaliar fatores associados à invasão linfovascular. Shen *et al.* (SHEN *et al.*, 2018) em um estudo sobre diversos marcadores imunohistológicos observaram que o índice proliferativo por Ki-67 e HER2 foram preditores independentes para invasão linfovascular, mas não p53. Ademais, He *et al.* observaram uma importante correlação entre Ki-67 e a invasão linfovascular (HE *et al.*, 2017). Porém, Ouyang *et al.* (OUYANG *et al.*, 2019) observaram, de forma semelhante a nós, que o tamanho do tumor e grau histológico, dentro outros fatores clinicopatológicos, mas não HER2 ou Ki-67, foram preditivos para invasão linfovascular. Nesta coorte de apenas pacientes luminais foi observado que a presença de mutação de p53 e tumores >T1, bem como grau de diferenciação pobre (G3), são preditivos para invasão linfovascular, contrastando com boa parte da literatura. Interessantemente, a expressão semiquantitativa de ambos HRs (cHR), mas não de PR isoladamente, teve uma associação limítrofe com a invasão linfovascular. E, ainda mais importante, a estratificação de risco incluindo grau histológico, especialmente a que culmina na segregação por cHR, se mostrou mais robusta que o grau histológico em si mesmo.

Diversos estudos mostram que a mutação de p53 é fator de pior prognóstico no câncer de mama (SADIGHI *et al.*, 2017), seja luminal (JIA *et al.*, 2015; YAMAMOTO *et al.*, 2014) ou mesmo triplo-negativo (PAN *et al.*, 2017). Isso está de acordo com o fato da mutação de p53 favorecer a EMT, invasividade, migração e. De fato, a mutação de p53, observada por IHQ como resultado do seu acúmulo como subproduto da mutação, leva a um perfil de maior agressividade (LEVINE; BERGER, 2017; TANG *et al.*, 2020). Apesar de diversos estudos observarem que a mutação de p53 se associa com os desfechos aqui analisados (AHN *et al.*, 2015; FEELEY *et al.*, 2014; LEE *et al.*, 2015; YAMAMOTO *et al.*, 2014), não foi incluído nessas análises por não ser mandatório, nem comum na rotina de muitos laboratórios, em contraste com o Ki-67, e para não reduzir ainda mais o número de pacientes e eventos analisados. No entanto, foi possível observar que a marcação de p53 por IHQ possui uma importante associação com a invasão linfovascular, que, como supracitado, é um fator de

agressividade de interesse clínico, o que pode motivar a mudança nas diretrizes da análise desse marcador.

Como ponto culminante, foi possível observar por análises de componentes principais categóricos que as estratificações de risco se alinham claramente com perfis de agressividade tumoral distintos. Foi possível notar duas extremidades, uma sendo dominada por tumores bem diferenciados (G3) e/ou com baixo índice proliferativo ($Ki-67 \leq 10\%$), e a outra dominada por tumores mau diferenciados e/ou com alto índice proliferativo ($Ki-67 \geq 40\%$). Esses perfis se associaram fortemente com outras características patológicas, como invasão linfovascular, tamanho de tumor e metástase linfonodal. Apesar da expressão semiquantitativa dos HRs compor outra dimensão, um fato interessante observado foi a proximidade das expressões semiquantitativas mais elevadas se aproximarem dos tumores moderadamente diferenciados (G2). Isso pode indicar que a associação se deve ou à alta frequência das duas características ocorrerem simultaneamente, ou que pode justamente promover uma discriminação de perfil nos tumores moderadamente diferenciados. Mesmo com essa possível nuance, esses achados corroboram as estratificações de risco obtidos nas análises de regressão de Cox.

Apesar de não haverem estudos semelhantes na literatura sobre análises de perfis conforme realizadas, é digno de nota que dados do estudo clínico randomizado PlanB mostraram que há uma alta concordância do RS não alto (≤ 25) com $Ki-67 < 10\%$ e do RS alto (> 25) com $Ki-67 \geq 40\%$ (NITZ *et al.*, 2017). Também, observaram correlações do RS com PR, ER e grau histológico, sendo que a combinação de $Ki-67$ e PR ($Ki-67 < 20\%/PR > 20\%$ e $Ki-67 \geq 40\%/PR \leq 20\%$) tem uma concordância quase completa com os cortes de RS (baixo e alto) (GLUZ *et al.*, 2016). Tanto os perfis quanto as classificações de risco aqui obtidas concordam em alto grau com esses achados do estudo PlanB, reforçando a importância dos resultados aqui obtidos.

Em suma, foi possível observar que a combinação dos fatores prognósticos leva uma classificação de risco mais razoável e refinada em pacientes com câncer de mama luminal, que se associa com fatores de agressividade e perfis tumorais altamente contrastantes. Especificamente, o índice proliferativo por $Ki-67$ e a expressão semiquantitativa de PR ou, principalmente, cHR, possibilita a identificação de pacientes cujos tumores são bem ou moderadamente diferenciados (G1 e G2) cuja biologia é discrepante e percurso clínico são discrepantes. Ademais, essa classificação incorporando cHR gera modificação de efeito por quimioterapia de acordo com a metástase linfonodal, refletindo melhor esse efeito causado exclusivamente por $Ki-67$ do que a classificação incorporando a PR, lançando luz sobre a

possibilidade de um sistema integrado ser preditivo para benefício de quimioterapia do que as classificações convencionais.

Este estudo apresenta várias limitações, como o longo período decorrido, o que implica a incorporação de novas terapias. Outras limitações são: a ausência de relato da condição menopausal na maioria das pacientes; a possibilidade de artefatos de análise de IHQ (HAMMOND *et al.*, 2010), as quais não se obteve acesso; e a reprodutibilidade e viabilidade de diferentes clones de anticorpos (BOGINA *et al.*, 2012; CALHOUN *et al.*, 2018; HAMMOND *et al.*, 2010; RAKHA; LEE; *et al.*, 2012; TROXELL *et al.*, 2017), que foram vários os utilizados pela Instituição, que podem prejudicar os presentes resultados. Também, o baixo número de pacientes representando certas características histopatológicas e imuno-histoquímicas, como tumores G1 e G3, e tumores com baixa expressão de receptores hormonais e/ou apenas um receptor hormonal, levou a resultados com intervalos de confiança muito amplos devido ao baixo número de eventos observados nestas categorias.

Em relação ao Ki-67, analisamos apenas uma dicotomização, de acordo com a metodologia estatística utilizada. No entanto, sabe-se que existem categorizações multiníveis do Ki-67 que melhor se relacionam com o desenvolvimento de recaídas e resposta à quimioterapia (BURSTEIN, 2020; BURSTEIN *et al.*, 2019; COATES *et al.*, 2015; CRISCITIELLO *et al.*, 2014; DOWSETT *et al.*, 2011).

Ademais, não pudemos observar o tempo mediano de sobrevida na maioria das análises, sendo observado praticamente apenas para a segunda categoria de classificação de pacientes luminais de todas as reclassificações, mas não para a primeira categoria ou pacientes com tumores triplo-negativos, o que torna os resultados em fatores prognósticos dependentes das curvas de sobrevida desta coorte.

Mas a principal limitação é a classificação da expressão semiquantitativa dos receptores hormonais. Devido à falta de padronização da expressão semiquantitativa destes, que recentemente foi incorporada às diretrizes do sistema público de saúde no Brasil (SAÚDE, 2019), foi necessário padronizar os resultados para o sistema ordinal de cruces de Sannino e Shousha (SANNINO; SHOUSHA, 1994; SHOUSHA; PESTON, 1997). Isso leva à perda de informações que sistemas mais refinados fornecem, como os sistemas Allred ou H-score (ALLRED *et al.*, 1992; HARVEY *et al.*, 1999).

No entanto, diversas providências foram tomadas para diminuir esses possíveis vieses. Por exemplo, as pacientes tiveram os tratamentos e seus estadiamentos classificados de acordo com diretrizes atuais. Também, a exclusão de pacientes com dados faltantes ou classificações que poderiam gerar ambiguidades, como a classificação 2+ da expressão semiquantitativa dos

receptores hormonais, foi realizada para reduzir incertezas e validade de resultados. Igualmente importante, os resultados foram reproduzidos no subgrupo de pacientes de tratamento adjuvante apenas. E as análises foram, na sua maioria, corroborado por *bootstrapping* com, pelo menos, 1.000 reamostragens, tornando válidas as observações por apontar ausência de viés, pelo menos de possíveis resultados que se apoiariam em valores extremos (*outliers*). Provavelmente por essas medidas que os presentes resultados não contrastam muito com os da literatura.

Um estudo com uma grande coorte e dados imuno-histoquímicos melhorados (porcentagem e intensidade) poderia mostrar a validade da abordagem apresentada e se é possível integrar grau histológico e Ki-67, juntamente com a expressão semiquantitativa de receptores hormonais, para identificar pacientes com alto risco de desenvolver metástases à distância e morte.

CONCLUSÃO

É possível classificar pacientes com câncer de mama luminal de alto risco utilizando uma análise conjunta do grau histológico, da expressão de Ki-67 e da expressão semiquantitativa dos receptores hormonais. A combinação desses fatores, considerando a expressão semiquantitativa de ambos receptores hormonais, e não apenas do PR, se mostrou superior às classificações convencionais e outras estratégias de classificação de risco e possibilitou a identificação de pacientes de alto risco, com desfechos semelhantes aos do câncer triplo-negativo. Ademais, foi a única classificação conjunta que apresentou um potencial valor preditivo de benefício para quimioterapia, apesar do índice proliferativo por Ki-67 e pN serem melhores. Ademais, foi possível identificar perfis de agressividade tumoral que mostram a associação dessa análise conjunta com outros fatores clinicopatológicos (pT e pN) de menor risco de metástase à distância e óbito. Esses dados atestam a necessidade de incluir uma análise detalhada desses fatores nas rotinas e diretrizes de países como o Brasil.

REFERÊNCIAS

ABBA, M. C.; ZHONG, Y.; LEE, J.; KIL, H. *et al.* DMBA induced mouse mammary tumors display high incidence of activating Pik3caH1047 and loss of function Pten mutations. **Oncotarget**, v. 7, n. 39, p. 64289-64299, Sep 27 2016. doi: 10.18632/oncotarget.11733

ABDEL-FATAH, T. M. A.; WEBB, R.; LI, R.; CHEN, X. *et al.* Evidence that neoadjuvant anthracycline based combination chemotherapy (NACT) in breast cancer (BC) induces phenotypical changes which guides the optimal adjuvant therapy. **Journal of Clinical Oncology**, v. 37, n. 15_suppl, p. 590-590, 2019. doi: 10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.590

ABDEL-FATAH, T. M. A.; WEBB, R.; WALKER, J.; LIM, J. *et al.* Abstract P5-06-06: Clinically significant changes of receptors status (ER, PR and HER2) after receiving neoadjuvant chemotherapy (NACT) in breast cancer (BC) predicts the prognosis and guides the choice of the optimal adjuvant therapy (AT): Retesting of the receptor status should be mandatory. **Cancer Research**, v. 80, n. 4 Supplement, p. P5-06-06-P05-06-06, 2020. doi: 10.1158/1538-7445.sabcs19-p5-06-06

ADAMS, A. L.; CHHIENG, D. C.; BELL, W. C.; WINOKUR, T. *et al.* Histologic grading of invasive lobular carcinoma: does use of a 2-tiered nuclear grading system improve interobserver variability? **Ann Diagn Pathol**, v. 13, n. 4, p. 223-225, Aug 2009. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2009.03.004

AGUIRRE-GHISO, J. A. How dormant cancer persists and reawakens. **Science**, v. 361, n. 6409, p. 1314-1315, Sep 28 2018. doi: 10.1126/science.aav0191

AHN, H. J.; JUNG, S. J.; KIM, T. H.; OH, M. K. *et al.* Differences in Clinical Outcomes between Luminal A and B Type Breast Cancers according to the St. Gallen Consensus 2013. **J Breast Cancer**, v. 18, n. 2, p. 149-159, Jun 2015. doi: 10.4048/jbc.2015.18.2.149

ALESKANDARANY, M. A.; RAKHA, E. A.; MACMILLAN, R. D.; POWE, D. G. *et al.* MIB1/Ki-67 labelling index can classify grade 2 breast cancer into two clinically distinct subgroups. **Breast Cancer Res Treat**, v. 127, n. 3, p. 591-599, Jun 2011. doi: 10.1007/s10549-010-1028-3

ALI, R.; BROWN, W.; PURDY, S. C.; DAVISSON, V. J. *et al.* Biased signaling downstream of epidermal growth factor receptor regulates proliferative versus apoptotic response to ligand. **Cell Death Dis**, v. 9, n. 10, p. 976, Sep 24 2018. doi: 10.1038/s41419-018-1034-7

ALI, R.; WENDT, M. K. The paradoxical functions of EGFR during breast cancer progression. **Signal Transduct Target Ther**, v. 2, 2017. doi: 10.1038/sigtrans.2016.42

ALLISON, K. H.; HAMMOND, M. E.; DOWSETT, M.; MCKERNIN, S. E. *et al.* Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer: ASCO/CAP Guideline Update. v. 38, n. 12, p. 1346-1366, 2020. doi: 10.1200/jco.19.02309

ALLRED, D. C.; CLARK, G. M.; MOLINA, R.; TANDON, A. K. *et al.* Overexpression of HER-2/neu and its relationship with other prognostic factors change during the progression of in situ to invasive breast cancer. **Hum Pathol**, v. 23, n. 9, p. 974-979, Sep 1992. doi: 10.1016/0046-8177(92)90257-4

AMIN, M. B.; GREENE, F. L.; EDGE, S. B.; COMPTON, C. C. *et al.* The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. **CA Cancer J Clin**, v. 67, n. 2, p. 93-99, Mar 2017. doi: 10.3322/caac.21388

ARIMA, N.; NISHIMURA, R.; OSAKO, T.; OKUMURA, Y. *et al.* Ki-67 index value and progesterone receptor status can predict prognosis and suitable treatment in node-negative breast cancer patients with estrogen receptor-positive and HER2-negative tumors. **Oncol Lett**, v. 17, n. 1, p. 616-622, Jan 2019. doi: 10.3892/ol.2018.9633

BACCHI, C. E.; PRISCO, F.; CARVALHO, F. M.; OJOPI, E. B. *et al.* Potential economic impact of the 21-gene expression assay on the treatment of breast cancer in Brazil. **Rev Assoc Med Bras (1992)**, v. 56, n. 2, p. 186-191, Mar-Apr 2010. doi: 10.1590/s0104-42302010000200017

BAE, S. Y.; KIM, S.; LEE, J. H.; LEE, H. C. *et al.* Poor prognosis of single hormone receptor-positive breast cancer: similar outcome as triple-negative breast cancer. **BMC Cancer**, v. 15, p. 138, Mar 18 2015. doi: 10.1186/s12885-015-1121-4

BAKHOUM, S. F.; COMPTON, D. A. Chromosomal instability and cancer: a complex relationship with therapeutic potential. **J Clin Invest**, v. 122, n. 4, p. 1138-1143, Apr 2012. doi: 10.1172/JCI59954

BANE, A. L.; TJAN, S.; PARKES, R. K.; ANDRULIS, I. *et al.* Invasive lobular carcinoma: to grade or not to grade. **Mod Pathol**, v. 18, n. 5, p. 621-628, May 2005. doi: 10.1038/modpathol.3800273

BASKOTA, S. U.; DABBS, D. J.; CLARK, B. Z.; BHARGAVA, R. Prosigna(R) breast cancer assay: histopathologic correlation, development, and assessment of size, nodal status, Ki-67 (SiNK) index for breast cancer prognosis. **Mod Pathol**, v. 34, n. 1, p. 70-76, Jan 2021. doi: 10.1038/s41379-020-0643-8

BEERLING, E.; SEINSTRA, D.; DE WIT, E.; KESTER, L. *et al.* Plasticity between Epithelial and Mesenchymal States Unlinks EMT from Metastasis-Enhancing Stem Cell Capacity. **Cell Rep**, v. 14, n. 10, p. 2281-2288, Mar 15 2016. doi: 10.1016/j.celrep.2016.02.034

BHARGAVA, R.; CLARK, B. Z.; CARTER, G. J.; BRUFISKY, A. M. *et al.* The healthcare value of the Magee Decision Algorithm: use of Magee Equations and mitosis score to safely forgo molecular testing in breast cancer. **Mod Pathol**, v. 33, n. 8, p. 1563-1570, Aug 2020. doi: 10.1038/s41379-020-0521-4

BHARGAVA, R.; CLARK, B. Z.; DABBS, D. J. Breast Cancers With Magee Equation Score of Less Than 18, or 18-25 and Mitosis Score of 1, Do Not Require Oncotype DX Testing: A Value Study. **Am J Clin Pathol**, v. 151, n. 3, p. 316-323, Feb 4 2019. doi: 10.1093/ajcp/aqy148

BOGINA, G.; ZAMBONI, G.; SAPINO, A.; BORTESI, L. *et al.* Comparison of anti-estrogen receptor antibodies SP1, 6F11, and 1D5 in breast cancer: lower 1D5 sensitivity but questionable clinical implications. **Am J Clin Pathol**, v. 138, n. 5, p. 697-702, Nov 2012. doi: 10.1309/AJCPLX0QJROV2IJG

BOMBONATI, A.; SGROI, D. C. The molecular pathology of breast cancer progression. **J Pathol**, v. 223, n. 2, p. 307-317, Jan 2011. doi: 10.1002/path.2808

BOYLAND, E. Tumour initiators, promoters, and complete carcinogens. **Br J Ind Med**, v. 42, n. 10, p. 716-718, Oct 1985. doi: 10.1136/oem.42.10.716

BRASIL. Portaria conjunta nº 5 SCTIE/SAS/MS, de abril de 2019. Brasília, DF: Diário Oficial da União: 44, 45 p. 29 de abril de 2019.

BROWNE, G.; SAYAN, A. E.; TULCHINSKY, E. ZEB proteins link cell motility with cell cycle control and cell survival in cancer. **Cell Cycle**, v. 9, n. 5, p. 886-891, Mar 1 2010. doi: 10.4161/cc.9.5.10839

BRULE, C. E.; GRAYHACK, E. J. Synonymous Codons: Choose Wisely for Expression. **Trends Genet**, v. 33, n. 4, p. 283-297, Apr 2017. doi: 10.1016/j.tig.2017.02.001

BUDACH, W.; BOLKE, E.; KAMMERS, K.; GERBER, P. A. *et al.* Adjuvant radiation therapy of regional lymph nodes in breast cancer - a meta-analysis of randomized trials- an update. **Radiat Oncol**, v. 10, p. 258, Dec 21 2015. doi: 10.1186/s13014-015-0568-4

BURSTEIN, H. J. Systemic Therapy for Estrogen Receptor-Positive, HER2-Negative Breast Cancer. **N Engl J Med**, v. 383, n. 26, p. 2557-2570, Dec 24 2020. doi: 10.1056/NEJMra1307118

BURSTEIN, H. J.; CURIGLIANO, G.; LOIBL, S.; DUBSKY, P. *et al.* Estimating the benefits of therapy for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for the primary therapy of early breast cancer 2019. **Ann Oncol**, v. 30, n. 10, p. 1541-1557, Oct 1 2019. doi: 10.1093/annonc/mdz235

BUSTREO, S.; OSELLA-ABATE, S.; CASSONI, P.; DONADIO, M. *et al.* Optimal Ki67 cut-off for luminal breast cancer prognostic evaluation: a large case series study with a long-term follow-up. **Breast Cancer Res Treat**, v. 157, n. 2, p. 363-371, Jun 2016. doi: 10.1007/s10549-016-3817-9

CALHOUN, B. C.; MOSTELLER, B.; WARREN, D.; SMITH, M. *et al.* Analytical and clinical performance of progesterone receptor antibodies in breast cancer. **Ann Diagn Pathol**, v. 35, p. 21-26, Aug 2018. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2018.02.007

CANCER GENOME ATLAS, N. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. **Nature**, v. 490, n. 7418, p. 61-70, Oct 4 2012. doi: 10.1038/nature11412

CARTEGNI, L.; CHEW, S. L.; KRAINER, A. R. Listening to silence and understanding nonsense: exonic mutations that affect splicing. **Nat Rev Genet**, v. 3, n. 4, p. 285-298, Apr 2002. doi: 10.1038/nrg775

CARVALHO, F. M.; BACCHI, L. M.; PINCERATO, K. M.; VAN DE RIJN, M. *et al.* Geographic differences in the distribution of molecular subtypes of breast cancer in Brazil. **BMC Womens Health**, v. 14, p. 102, Aug 29 2014. doi: 10.1186/1472-6874-14-102

CHANDLER, Y.; SCHECHTER, C. B.; JAYASEKERA, J.; NEAR, A. *et al.* Cost Effectiveness of Gene Expression Profile Testing in Community Practice. **J Clin Oncol**, v. 36, n. 6, p. 554-562, Feb 20 2018. doi: 10.1200/JCO.2017.74.5034

CHEN, Y.; SHI, X. E.; TIAN, J. H.; YANG, X. J. *et al.* Survival benefit of neoadjuvant chemotherapy for resectable breast cancer: A meta-analysis. **Medicine (Baltimore)**, v. 97, n. 20, p. e10634, May 2018. doi: 10.1097/MD.00000000000010634

CHEUNG, K. J.; EWALD, A. J. A collective route to metastasis: Seeding by tumor cell clusters. **Science**, v. 352, n. 6282, p. 167-169, Apr 8 2016. doi: 10.1126/science.aaf6546

CHLEBOWSKI, R. T.; CHEN, Z.; ANDERSON, G. L.; ROHAN, T. *et al.* Ethnicity and breast cancer: factors influencing differences in incidence and outcome. **J Natl Cancer Inst**, v. 97, n. 6, p. 439-448, Mar 16 2005. doi: 10.1093/jnci/dji064

CHU, D.; WEI, L. Nonsynonymous, synonymous and nonsense mutations in human cancer-related genes undergo stronger purifying selections than expectation. **BMC Cancer**, v. 19, n. 1, p. 359, Apr 16 2019. doi: 10.1186/s12885-019-5572-x

COATES, A. S.; WINER, E. P.; GOLDHIRSCH, A.; GELBER, R. D. *et al.* Tailoring therapies-improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. **Ann Oncol**, v. 26, n. 8, p. 1533-1546, Aug 2015. doi: 10.1093/annonc/mdv221

COMAILLS, V.; KABECHE, L.; MORRIS, R.; BUISSON, R. *et al.* Genomic Instability Is Induced by Persistent Proliferation of Cells Undergoing Epithelial-to-Mesenchymal Transition. **Cell Rep**, v. 17, n. 10, p. 2632-2647, Dec 6 2016. doi: 10.1016/j.celrep.2016.11.022

CONSORTIUM, I. T. P.-C. A. o. W. G. Pan-cancer analysis of whole genomes. **Nature**, v. 578, n. 7793, p. 82-93, Feb 2020. doi: 10.1038/s41586-020-1969-6

CRISCITIELLO, C.; DISALVATORE, D.; DE LAURENTIIS, M.; GELAO, L. *et al.* High Ki-67 score is indicative of a greater benefit from adjuvant chemotherapy when added to endocrine

therapy in luminal B HER2 negative and node-positive breast cancer. **Breast**, v. 23, n. 1, p. 69-75, Feb 2014. doi: 10.1016/j.breast.2013.11.007

CUNHA, P. O.; ORNSTEIN, M.; JONES, J. L. Progression of Ductal Carcinoma in Situ from the Pathological Perspective. **Breast Care (Basel)**, v. 5, n. 4, p. 233-239, Aug 2010. doi: 10.1159/000319625

CUZICK, J.; DOWSETT, M.; PINEDA, S.; WALE, C. *et al.* Prognostic value of a combined estrogen receptor, progesterone receptor, Ki-67, and human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemical score and comparison with the Genomic Health recurrence score in early breast cancer. **J Clin Oncol**, v. 29, n. 32, p. 4273-4278, Nov 10 2011. doi: 10.1200/JCO.2010.31.2835

DA LUZ, F. A. C.; DA COSTA MARINHO, E.; NASCIMENTO, C. P.; DE ANDRADE MARQUES, L. *et al.* Prognosis value of lymphovascular invasion in patients with invasive ductal breast carcinoma according to lymph node metastasis status. **Ecancermedicalscience**, v. 16, p. 1364, 2022. doi: 10.3332/ecancer.2022.1364

DAEMEN, A.; MANNING, G. HER2 is not a cancer subtype but rather a pan-cancer event and is highly enriched in AR-driven breast tumors. **Breast Cancer Res**, v. 20, n. 1, p. 8, Jan 30 2018. doi: 10.1186/s13058-018-0933-y

DALTON, L. W.; PAGE, D. L.; DUPONT, W. D. Histologic grading of breast carcinoma. A reproducibility study. **Cancer**, v. 73, n. 11, p. 2765-2770, Jun 1 1994. doi: 10.1002/1097-0142(19940601)73:11<2765::aid-cnrcr2820731119>3.0.co;2-k

DAWSON, S. J.; RUEDA, O. M.; APARICIO, S.; CALDAS, C. A new genome-driven integrated classification of breast cancer and its implications. **EMBO J**, v. 32, n. 5, p. 617-628, Mar 6 2013. doi: 10.1038/emboj.2013.19

DE ARAUJO, R. A.; CORDERO DA LUZ, F. A.; DA COSTA MARINHO, E.; MENDES, T. R. *et al.* Operable breast cancer: How not to worsen the prognosis, especially in triple negative and stage II tumors. **Surg Oncol**, v. 38, p. 101596, Sep 2021. doi: 10.1016/j.suronc.2021.101596

DE AZAMBUJA, E.; CARDOSO, F.; DE CASTRO, G., Jr.; COLOZZA, M. *et al.* Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. **Br J Cancer**, v. 96, n. 10, p. 1504-1513, May 21 2007. doi: 10.1038/sj.bjc.6603756

DENKERT, C.; BUDCZIES, J.; VON MINCKWITZ, G.; WIENERT, S. *et al.* Strategies for developing Ki67 as a useful biomarker in breast cancer. **Breast**, v. 24 Suppl 2, p. S67-72, Nov 2015. doi: 10.1016/j.breast.2015.07.017

DINIZ, C. S. G.; PELLINI, A. C. G.; RIBEIRO, A. G.; TEDARDI, M. V. *et al.* Breast cancer mortality and associated factors in Sao Paulo State, Brazil: an ecological analysis. **BMJ Open**, v. 7, n. 8, p. e016395, Aug 23 2017. doi: 10.1136/bmjopen-2017-016395

DONAHUE, S. L.; LIN, Q.; CAO, S.; RULEY, H. E. Carcinogens induce genome-wide loss of heterozygosity in normal stem cells without persistent chromosomal instability. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 103, n. 31, p. 11642-11646, Aug 1 2006. doi: 10.1073/pnas.0510741103

DONGRE, A.; WEINBERG, R. A. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 20, n. 2, p. 69-84, Feb 2019. doi: 10.1038/s41580-018-0080-4

DOS-SANTOS-SILVA, I.; DE STAVOLA, B. L.; RENNA, N. L. J.; NOGUEIRA, M. C. *et al.* Ethnoracial and social trends in breast cancer staging at diagnosis in Brazil, 2001-14: a case only analysis. **Lancet Glob Health**, v. 7, n. 6, p. e784-e797, Jun 2019. doi: 10.1016/S2214-109X(19)30151-2

DOWSETT, M.; NIELSEN, T. O.; A'HERN, R.; BARTLETT, J. *et al.* Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group. **J Natl Cancer Inst**, v. 103, n. 22, p. 1656-1664, Nov 16 2011. doi: 10.1093/jnci/djr393

DOWSETT, M.; SESTAK, I.; LOPEZ-KNOWLES, E.; SIDHU, K. *et al.* Comparison of PAM50 risk of recurrence score with oncotype DX and IHC4 for predicting risk of distant recurrence after endocrine therapy. **J Clin Oncol**, v. 31, n. 22, p. 2783-2790, Aug 1 2013. doi: 10.1200/JCO.2012.46.1558

DRISCOLL, J. J.; RIXE, O. Overall survival: still the gold standard: why overall survival remains the definitive end point in cancer clinical trials. **Cancer J**, v. 15, n. 5, p. 401-405, Sep-Oct 2009. doi: 10.1097/PPO.0b013e3181bdc2e0

EARLY BREAST CANCER TRIALISTS' COLLABORATIVE, G. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview

of the randomised trials. **Lancet**, v. 365, n. 9472, p. 1687-1717, May 14-20 2005. doi: 10.1016/S0140-6736(05)66544-0

EATON, A. A.; PESCE, C. E.; MURPHY, J. O.; STEMPEL, M. M. *et al.* Estimating the OncotypeDX score: validation of an inexpensive estimation tool. **Breast Cancer Res Treat**, v. 161, n. 3, p. 435-441, Feb 2017. doi: 10.1007/s10549-016-4069-4

EDGE, S. B.; BYRD, D. R.; COMPTON, C. C.; FRITZ, A. G. *et al.* (ed.). **AJCC Cancer Staging Manual** Seventh ed. New York, NY: Springer-Verlag, 2015. 672 p.

EHINGER, A.; MALMSTROM, P.; BENDAHL, P. O.; ELSTON, C. W. *et al.* Histological grade provides significant prognostic information in addition to breast cancer subtypes defined according to St Gallen 2013. **Acta Oncol**, v. 56, n. 1, p. 68-74, Jan 2017. doi: 10.1080/0284186X.2016.1237778

EJLERTSEN, B.; JENSEN, M. B.; RANK, F.; RASMUSSEN, B. B. *et al.* Population-based study of peritumoral lymphovascular invasion and outcome among patients with operable breast cancer. **J Natl Cancer Inst**, v. 101, n. 10, p. 729-735, May 20 2009. doi: 10.1093/jnci/djp090

ELLIS, I. O.; COLEMAN, D.; WELLS, C.; KODIKARA, S. *et al.* Impact of a national external quality assessment scheme for breast pathology in the UK. **J Clin Pathol**, v. 59, n. 2, p. 138-145, Feb 2006. doi: 10.1136/jcp.2004.025551

ELSTON, C. W.; ELLIS, I. O. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. **Histopathology**, v. 19, n. 5, p. 403-410, Nov 1991. doi: 10.1111/j.1365-2559.1991.tb00229.x

ETHIER, J. L.; OCANA, A.; RODRIGUEZ LESCURE, A.; RUIZ, A. *et al.* Outcomes of single versus double hormone receptor-positive breast cancer. A GEICAM/9906 sub-study. **Eur J Cancer**, v. 94, p. 199-205, May 2018. doi: 10.1016/j.ejca.2018.02.018

FALLAHPOUR, S.; NAVANEELAN, T.; DE, P.; BORGIO, A. Breast cancer survival by molecular subtype: a population-based analysis of cancer registry data. **CMAJ Open**, v. 5, n. 3, p. E734-E739, Sep 25 2017. doi: 10.9778/cmajo.20170030

FAN, C.; OH, D. S.; WESSELS, L.; WEIGELT, B. *et al.* Concordance among gene-expression-based predictors for breast cancer. **N Engl J Med**, v. 355, n. 6, p. 560-569, Aug 10 2006. doi: 10.1056/NEJMoa052933

FAN, Y.; DING, X.; XU, B.; MA, F. *et al.* Prognostic Significance of Single Progesterone Receptor Positivity: A Comparison Study of Estrogen Receptor Negative/Progesterone Receptor Positive/Her2 Negative Primary Breast Cancer With Triple Negative Breast Cancer. **Medicine (Baltimore)**, v. 94, n. 46, p. e2066, Nov 2015. doi: 10.1097/MD.0000000000002066

FEELEY, L. P.; MULLIGAN, A. M.; PINNADUWAGE, D.; BULL, S. B. *et al.* Distinguishing luminal breast cancer subtypes by Ki67, progesterone receptor or TP53 status provides prognostic information. **Mod Pathol**, v. 27, n. 4, p. 554-561, Apr 2014. doi: 10.1038/modpathol.2013.153

FLANAGAN, M. B.; DABBS, D. J.; BRUFISKY, A. M.; BERIWAL, S. *et al.* Histopathologic variables predict Oncotype DX recurrence score. **Mod Pathol**, v. 21, n. 10, p. 1255-1261, Oct 2008. doi: 10.1038/modpathol.2008.54

FOULKES, W. D. Size surprise? Tumour size, nodal status, and outcome after breast cancer. **Curr Oncol**, v. 19, n. 5, p. 241-243, Oct 2012. doi: 10.3747/co.19.1185

FUJII, T.; LE DU, F.; XIAO, L.; KOGAWA, T. *et al.* Effectiveness of an Adjuvant Chemotherapy Regimen for Early-Stage Breast Cancer: A Systematic Review and Network Meta-analysis. **JAMA Oncol**, v. 1, n. 9, p. 1311-1318, Dec 2015. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.3062

GALLI, G.; BREGNI, G.; CAVALIERI, S.; PORCU, L. *et al.* Neoadjuvant Chemotherapy Exerts Selection Pressure Towards Luminal Phenotype Breast Cancer. **Breast Care (Basel)**, v. 12, n. 6, p. 391-394, Dec 2017. doi: 10.1159/000479582

GATHANI, T.; ALI, R.; BALKWILL, A.; GREEN, J. *et al.* Ethnic differences in breast cancer incidence in England are due to differences in known risk factors for the disease: prospective study. **Br J Cancer**, v. 110, n. 1, p. 224-229, Jan 7 2014. doi: 10.1038/bjc.2013.632

GEORGE, J. T.; JOLLY, M. K.; XU, S.; SOMARELLI, J. A. *et al.* Survival Outcomes in Cancer Patients Predicted by a Partial EMT Gene Expression Scoring Metric. **Cancer Res**, v. 77, n. 22, p. 6415-6428, Nov 15 2017. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-3521

GEYER, F. C.; PAREJA, F.; WEIGELT, B.; RAKHA, E. *et al.* The Spectrum of Triple-Negative Breast Disease: High- and Low-Grade Lesions. **Am J Pathol**, v. 187, n. 10, p. 2139-2151, Oct 2017. doi: 10.1016/j.ajpath.2017.03.016

GIULIANO, A. E.; EDGE, S. B.; HORTOBAGYI, G. N. Eighth Edition of the AJCC Cancer Staging Manual: Breast Cancer. **Ann Surg Oncol**, v. 25, n. 7, p. 1783-1785, Jul 2018. doi: 10.1245/s10434-018-6486-6

GLUZ, O.; NITZ, U. A.; CHRISTGEN, M.; KATES, R. E. *et al.* West German Study Group Phase III PlanB Trial: First Prospective Outcome Data for the 21-Gene Recurrence Score Assay and Concordance of Prognostic Markers by Central and Local Pathology Assessment. **J Clin Oncol**, v. 34, n. 20, p. 2341-2349, Jul 10 2016. doi: 10.1200/JCO.2015.63.5383

GNANT, M.; HARBECK, N.; THOMSEN, C. St. Gallen 2011: Summary of the Consensus Discussion. **Breast Care (Basel)**, v. 6, n. 2, p. 136-141, 2011. doi: 10.1159/000328054

GODOY-ORTIZ, A.; SANCHEZ-MUNOZ, A.; CHICA PARRADO, M. R.; ALVAREZ, M. *et al.* Deciphering HER2 Breast Cancer Disease: Biological and Clinical Implications. **Front Oncol**, v. 9, p. 1124, 2019. doi: 10.3389/fonc.2019.01124

GOKMEN-POLAR, Y.; NEELAMRAJU, Y.; GOSWAMI, C. P.; GU, Y. *et al.* Splicing factor ESRP1 controls ER-positive breast cancer by altering metabolic pathways. **EMBO Rep**, v. 20, n. 2, Feb 2019. doi: 10.15252/embr.201846078

GOLDHIRSCH, A.; WINER, E. P.; COATES, A. S.; GELBER, R. D. *et al.* Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. **Ann Oncol**, v. 24, n. 9, p. 2206-2223, Sep 2013. doi: 10.1093/annonc/mdt303

GOLDHIRSCH, A.; WOOD, W. C.; COATES, A. S.; GELBER, R. D. *et al.* Strategies for subtypes--dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. **Ann Oncol**, v. 22, n. 8, p. 1736-1747, Aug 2011. doi: 10.1093/annonc/mdr304

GOLDHIRSCH, A.; WOOD, W. C.; GELBER, R. D.; COATES, A. S. *et al.* Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007. **Ann Oncol**, v. 18, n. 7, p. 1133-1144, Jul 2007. doi: 10.1093/annonc/mdm271

GYANCHANDANI, R.; LIN, Y.; LIN, H. M.; COOPER, K. *et al.* Intratumor Heterogeneity Affects Gene Expression Profile Test Prognostic Risk Stratification in Early Breast Cancer. **Clin Cancer Res**, v. 22, n. 21, p. 5362-5369, Nov 1 2016. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2889

HAMMOND, M. E.; HAYES, D. F.; DOWSETT, M.; ALLRED, D. C. *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**, v. 134, n. 7, p. e48-72, 2010. doi: 10.1043/1543-2165-134.7.e48

HANAHAH, D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. **Cancer Discov**, v. 12, n. 1, p. 31-46, Jan 2022. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059

HANAHAH, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646-674, Mar 4 2011. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013

HARBECK, N.; PENAULT-LLORCA, F.; CORTES, J.; GNANT, M. *et al.* Breast cancer. **Nat Rev Dis Primers**, v. 5, n. 1, p. 66, Sep 23 2019. doi: 10.1038/s41572-019-0111-2

HARPER, K. L.; SOSA, M. S.; ENTENBERG, D.; HOSSEINI, H. *et al.* Mechanism of early dissemination and metastasis in Her2(+) mammary cancer. **Nature**, v. 540, n. 7634, p. 588-592, Dec 22 2016. doi: 10.1038/nature20609

HARRIS, J. R. Fifty years of progress in radiation therapy for breast cancer. **Am Soc Clin Oncol Educ Book**, v. p. 21-25, 2014. doi: 10.14694/EdBook_AM.2014.34.21

HARVEY, J. M.; CLARK, G. M.; OSBORNE, C. K.; ALLRED, D. C. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. **J Clin Oncol**, v. 17, n. 5, p. 1474-1481, May 1999. doi: 10.1200/JCO.1999.17.5.1474

HE, K. W.; SUN, J. J.; LIU, Z. B.; ZHUO, P. Y. *et al.* Prognostic significance of lymphatic vessel invasion diagnosed by D2-40 in Chinese invasive breast cancers. **Medicine (Baltimore)**, v. 96, n. 44, p. e8490, Nov 2017. doi: 10.1097/MD.00000000000008490

HE, Z. Y.; WU, S. G.; YANG, Q.; SUN, J. Y. *et al.* Breast Cancer Subtype is Associated With Axillary Lymph Node Metastasis: A Retrospective Cohort Study. **Medicine (Baltimore)**, v. 94, n. 48, p. e2213, Dec 2015. doi: 10.1097/MD.0000000000002213

HEMMINKI, K.; KOSKINEN, M.; RAJANIEMI, H.; ZHAO, C. Dna adducts, mutations, and cancer 2000. **Regul Toxicol Pharmacol**, v. 32, n. 3, p. 264-275, Dec 2000. doi: 10.1006/rtp.2000.1431

HON, J. D.; SINGH, B.; SAHIN, A.; DU, G. *et al.* Breast cancer molecular subtypes: from TNBC to QNBC. **Am J Cancer Res**, v. 6, n. 9, p. 1864-1872, 2016. doi: 5043099. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27725895>.

HORTOBAGYI, G. N.; CONNOLLY, C. E.; D'ORSI, C. J.; EDGE, S. B. *et al.* Breast. In: AMIN, M. B.; EDGE, S., *et al* (Ed.). **AJCC Cancer Staging Manual**. Eighth ed.: New York: Springer, 2017. cap. 48, p. 589-636.

HORTOBAGYI, G. N.; EDGE, S. B.; GIULIANO, A. New and Important Changes in the TNM Staging System for Breast Cancer. **Am Soc Clin Oncol Educ Book**, v. 38, p. 457-467, May 23 2018. doi: 10.1200/EDBK_201313

HOSSEINI, H.; OBRADOVIC, M. M. S.; HOFFMANN, M.; HARPER, K. L. *et al.* Early dissemination seeds metastasis in breast cancer. **Nature**, v. 540, n. 7634, p. 552-558, Dec 22 2016. doi: 10.1038/nature20785

INCA. **Atlas da Mortalidade**. 2019a. Disponível em: <https://mortalidade.inca.gov.br/MortalidadeWeb/>. Acesso em: 04/03/2020.

INCA. **Estimativa 2020. Incidência do Câncer no Brasil**. 2019b. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil>. Acesso em: 04/03/2020.

INWALD, E. C.; KLINKHAMMER-SCHALKE, M.; HOFSTADTER, F.; ZEMAN, F. *et al.* Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: results of a large population-based cohort of a cancer registry. **Breast Cancer Res Treat**, v. 139, n. 2, p. 539-552, Jun 2013. doi: 10.1007/s10549-013-2560-8

IQBAL, J.; GINSBURG, O.; ROCHON, P. A.; SUN, P. *et al.* Differences in breast cancer stage at diagnosis and cancer-specific survival by race and ethnicity in the United States. **JAMA**, v. 313, n. 2, p. 165-173, Jan 13 2015. doi: 10.1001/jama.2014.17322

IVSHINA, A. V.; GEORGE, J.; SENKO, O.; MOW, B. *et al.* Genetic reclassification of histologic grade delineates new clinical subtypes of breast cancer. **Cancer Res**, v. 66, n. 21, p. 10292-10301, Nov 1 2006. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-4414

JACQUEMIER, J.; MOLES, J. P.; PENAULT-LLORCA, F.; ADELAIDE, J. *et al.* p53 immunohistochemical analysis in breast cancer with four monoclonal antibodies: comparison of staining and PCR-SSCP results. **Br J Cancer**, v. 69, n. 5, p. 846-852, May 1994. doi: 10.1038/bjc.1994.164

JENA, N. R.; BANSAL, M. Mutagenicity associated with O6-methylguanine-DNA damage and mechanism of nucleotide flipping by AGT during repair. **Phys Biol**, v. 8, n. 4, p. 046007, Aug 2011. doi: 10.1088/1478-3975/8/4/046007

JENSEN, M. B.; NIELSEN, T. O.; KNOOP, A. S.; LAENKHOLM, A. V. *et al.* Mortality and recurrence rates among systemically untreated high risk breast cancer patients included in the DBCG 77 trials. **Acta Oncol**, v. 57, n. 1, p. 135-140, Jan 2018. doi: 10.1080/0284186X.2017.1400181

JIA, X. Q.; HONG, Q.; CHENG, J. Y.; LI, J. W. *et al.* Accumulation of p53 is prognostic for aromatase inhibitor resistance in early-stage postmenopausal patients with ER-positive breast cancer. **Onco Targets Ther**, v. 8, p. 549-555, 2015. doi: 10.2147/OTT.S76879

JOLLY, M. K.; WARE, K. E.; GILJA, S.; SOMARELLI, J. A. *et al.* EMT and MET: necessary or permissive for metastasis? **Mol Oncol**, v. 11, n. 7, p. 755-769, Jul 2017. doi: 10.1002/1878-0261.12083

JONES, R. L.; SALTER, J.; A'HERN, R.; NERURKAR, A. *et al.* The prognostic significance of Ki67 before and after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. **Breast Cancer Res Treat**, v. 116, n. 1, p. 53-68, Jul 2009. doi: 10.1007/s10549-008-0081-7

KADER, T.; HILL, P.; RAKHA, E. A.; CAMPBELL, I. G. *et al.* Atypical ductal hyperplasia: update on diagnosis, management, and molecular landscape. **Breast Cancer Res**, v. 20, n. 1, p. 39, May 2 2018. doi: 10.1186/s13058-018-0967-1

KALLURI, R.; WEINBERG, R. A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. **J Clin Invest**, v. 119, n. 6, p. 1420-1428, Jun 2009. doi: 10.1172/JCI39104

KASAI, H.; CHUNG, M. H.; JONES, D. S.; INOUE, H. *et al.* 8-Hydroxyguanine, a DNA adduct formed by oxygen radicals: its implication on oxygen radical-involved mutagenesis/carcinogenesis. **J Toxicol Sci**, v. 16 Suppl 1, p. 95-105, Feb 1991. doi: 10.2131/jts.16.supplementi_95

KIM, C.; LEE, J.; LEE, W.; KIM, A. Changes in intrinsic subtype of breast cancer during tumor progression in the same patient. **Int J Clin Exp Pathol**, v. 8, n. 11, p. 15184-15190, 2015. doi: PMC4713650. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26823864>.

KIM, H. K.; PARK, K. H.; KIM, Y.; PARK, S. E. *et al.* Discordance of the PAM50 Intrinsic Subtypes Compared with Immunohistochemistry-Based Surrogate in Breast Cancer Patients: Potential Implication of Genomic Alterations of Discordance. **Cancer Res Treat**, v. 51, n. 2, p. 737-747, Apr 2019. doi: 10.4143/crt.2018.342

KIM, H. S.; UMBRICH, C. B.; ILLEI, P. B.; CIMINO-MATHEWS, A. *et al.* Optimizing the Use of Gene Expression Profiling in Early-Stage Breast Cancer. **J Clin Oncol**, v. 34, n. 36, p. 4390-4397, Dec 20 2016. doi: 10.1200/JCO.2016.67.7195

KINSEL, L. B.; SZABO, E.; GREENE, G. L.; KONRATH, J. *et al.* Immunocytochemical analysis of estrogen receptors as a predictor of prognosis in breast cancer patients: comparison with quantitative biochemical methods. **Cancer Res**, v. 49, n. 4, p. 1052-1056, Feb 15 1989. doi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2643460>.

KROP, I.; ISMAILA, N.; ANDRE, F.; BAST, R. C. *et al.* Use of Biomarkers to Guide Decisions on Adjuvant Systemic Therapy for Women With Early-Stage Invasive Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Focused Update. **J Clin Oncol**, v. 35, n. 24, p. 2838-2847, Aug 20 2017. doi: 10.1200/JCO.2017.74.0472

KUNC, M.; BIERNAT, W.; SENKUS-KONEFKA, E. Estrogen receptor-negative progesterone receptor-positive breast cancer "Nobody's land" or just an artifact? **Cancer Treatment Reviews**, v. 67, p. 78-87, 2018. doi: 10.1016/j.ctrv.2018.05.005

KURBEL, S.; DMITROVIC, B.; MARJANOVIC, K.; VRBANEC, D. *et al.* Distribution of Ki-67 values within HER2 & ER/PgR expression variants of ductal breast cancers as a potential link between IHC features and breast cancer biology. **BMC Cancer**, v. 17, n. 1, p. 231, Mar 29 2017. doi: 10.1186/s12885-017-3212-x

KUROZUMI, S.; JOSEPH, C.; SONBUL, S.; ALSAEED, S. *et al.* A key genomic subtype associated with lymphovascular invasion in invasive breast cancer. **Br J Cancer**, v. 120, n. 12, p. 1129-1136, Jun 2019. doi: 10.1038/s41416-019-0486-6

LACROSS, J. S. Surgical management of breast cancer. **JAAPA**, v. 28, n. 6, p. 47-48, 50-42, 54-45, Jun 2015. doi: 10.1097/01.JAA.0000465220.96609.1d

LAIBLE, M.; HARTMANN, K.; GURTLER, C.; ANZENEDER, T. *et al.* Impact of molecular subtypes on the prediction of distant recurrence in estrogen receptor (ER) positive, human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) negative breast cancer upon five years of endocrine therapy. **BMC Cancer**, v. 19, n. 1, p. 694, Jul 15 2019. doi: 10.1186/s12885-019-5890-z

LEE, H. C.; KO, H.; SEOL, H.; NOH, D. Y. *et al.* Expression of Immunohistochemical Markers before and after Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Carcinoma, and Their Use as Predictors of Response. **J Breast Cancer**, v. 16, n. 4, p. 395-403, Dec 2013. doi: 10.4048/jbc.2013.16.4.395

LEE, S. K.; BAE, S. Y.; LEE, J. H.; LEE, H. C. *et al.* Distinguishing Low-Risk Luminal A Breast Cancer Subtypes with Ki-67 and p53 Is More Predictive of Long-Term Survival. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0124658, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0124658

LEHMANN, B. D.; BAUER, J. A.; CHEN, X.; SANDERS, M. E. *et al.* Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. **J Clin Invest**, v. 121, n. 7, p. 2750-2767, Jul 2011. doi: 10.1172/JCI45014

LEHMANN, B. D.; JOVANOVIC, B.; CHEN, X.; ESTRADA, M. V. *et al.* Refinement of Triple-Negative Breast Cancer Molecular Subtypes: Implications for Neoadjuvant Chemotherapy Selection. **PLoS One**, v. 11, n. 6, p. e0157368, 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0157368

LEVINE, A. J.; BERGER, S. L. The interplay between epigenetic changes and the p53 protein in stem cells. **Genes Dev**, v. 31, n. 12, p. 1195-1201, Jun 15 2017. doi: 10.1101/gad.298984.117

LI, C.; FAN, H.; XIANG, Q.; XU, L. *et al.* Prognostic value of receptor status conversion following neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients: a systematic review and meta-analysis. **Breast Cancer Res Treat**, v. 178, n. 3, p. 497-504, Dec 2019. doi: 10.1007/s10549-019-05421-7

LI, Y.; YANG, D.; YIN, X.; ZHANG, X. *et al.* Clinicopathological Characteristics and Breast Cancer-Specific Survival of Patients With Single Hormone Receptor-Positive Breast Cancer. **JAMA Netw Open**, v. 3, n. 1, p. e1918160, Jan 3 2020. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.18160

LI, Z.; TU, Y.; WU, Q.; WANG, Z. *et al.* Clinical Characteristics and Outcomes of Single Versus Double Hormone Receptor-Positive Breast Cancer in 2 Large Databases. **Clin Breast Cancer**, v. 20, n. 2, p. e151-e163, Apr 2020. doi: 10.1016/j.clbc.2019.07.002

LIAN, W.; FU, F.; LIN, Y.; LU, M. *et al.* The Impact of Young Age for Prognosis by Subtype in Women with Early Breast Cancer. **Sci Rep**, v. 7, n. 1, p. 11625, Sep 14 2017. doi: 10.1038/s41598-017-10414-x

LIANG, Q.; MA, D.; GAO, R. F.; YU, K. D. Effect of Ki-67 Expression Levels and Histological Grade on Breast Cancer Early Relapse in Patients with Different Immunohistochemical-based Subtypes. **Sci Rep**, v. 10, n. 1, p. 7648, May 6 2020. doi: 10.1038/s41598-020-64523-1

LIM, E.; WINER, E. P. Adjuvant chemotherapy in luminal breast cancers. **Breast**, v. 20 Suppl 3, p. S128-131, Oct 2011. doi: 10.1016/S0960-9776(11)70309-5

LIM, E.; WU, D.; PAL, B.; BOURAS, T. *et al.* Transcriptome analyses of mouse and human mammary cell subpopulations reveal multiple conserved genes and pathways. **Breast Cancer Res**, v. 12, n. 2, p. R21, 2010. doi: 10.1186/bcr2560

LIM, S. K.; LEE, M. H.; PARK, I. H.; YOU, J. Y. *et al.* Impact of Molecular Subtype Conversion of Breast Cancers after Neoadjuvant Chemotherapy on Clinical Outcome. **Cancer Res Treat**, v. 48, n. 1, p. 133-141, Jan 2016. doi: 10.4143/crt.2014.262

LOI, S.; HAIBE-KAINS, B.; DESMEDT, C.; LALLEMAND, F. *et al.* Definition of clinically distinct molecular subtypes in estrogen receptor-positive breast carcinomas through genomic grade. **J Clin Oncol**, v. 25, n. 10, p. 1239-1246, Apr 1 2007. doi: 10.1200/JCO.2006.07.1522

LONGACRE, T. A.; ENNIS, M.; QUENNEVILLE, L. A.; BANE, A. L. *et al.* Interobserver agreement and reproducibility in classification of invasive breast carcinoma: an NCI breast cancer family registry study. **Mod Pathol**, v. 19, n. 2, p. 195-207, Feb 2006. doi: 10.1038/modpathol.3800496

LUZ, F. A. C.; MARINHO, E. D. C.; NASCIMENTO, C. P.; MARQUES, L. A. *et al.* The effectiveness of radiotherapy in preventing disease recurrence after breast cancer surgery. **Surg Oncol**, v. 41, p. 101709, Feb 1 2022. doi: 10.1016/j.suronc.2022.101709

MAKKI, J. Diversity of Breast Carcinoma: Histological Subtypes and Clinical Relevance. **Clin Med Insights Pathol**, v. 8, p. 23-31, 2015. doi: 10.4137/CPath.S31563

MAMOUNAS, E. P.; ANDERSON, S. J.; DIGNAM, J. J.; BEAR, H. D. *et al.* Predictors of locoregional recurrence after neoadjuvant chemotherapy: results from combined analysis of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18 and B-27. **J Clin Oncol**, v. 30, n. 32, p. 3960-3966, Nov 10 2012. doi: 10.1200/JCO.2011.40.8369

MARIOTTO, A. B.; NOONE, A. M.; HOWLADER, N.; CHO, H. *et al.* Cancer survival: an overview of measures, uses, and interpretation. **J Natl Cancer Inst Monogr**, v. 2014, n. 49, p. 145-186, Nov 2014. doi: 10.1093/jncimonographs/lgu024

MARTIN, M.; BRASE, J. C.; CALVO, L.; KRAPPMANN, K. *et al.* Clinical validation of the EndoPredict test in node-positive, chemotherapy-treated ER+/HER2- breast cancer patients: results from the GEICAM 9906 trial. **Breast Cancer Res**, v. 16, n. 2, p. R38, Apr 12 2014. doi: 10.1186/bcr3642

MARTINCORENA, I.; FOWLER, J. C.; WABIK, A.; LAWSON, A. R. J. *et al.* Somatic mutant clones colonize the human esophagus with age. **Science**, v. 362, n. 6417, p. 911-917, Nov 23 2018. doi: 10.1126/science.aau3879

MARTINCORENA, I.; RAINE, K. M.; GERSTUNG, M.; DAWSON, K. J. *et al.* Universal Patterns of Selection in Cancer and Somatic Tissues. **Cell**, v. 171, n. 5, p. 1029-1041 e1021, Nov 16 2017. doi: 10.1016/j.cell.2017.09.042

MARTINCORENA, I.; ROSHAN, A.; GERSTUNG, M.; ELLIS, P. *et al.* Tumor evolution. High burden and pervasive positive selection of somatic mutations in normal human skin. **Science**, v. 348, n. 6237, p. 880-886, May 22 2015. doi: 10.1126/science.aaa6806

MATTES, M. D.; BHATIA, J. K.; METZGER, D.; ASHAMALLA, H. *et al.* Breast Cancer Subtype as a Predictor of Lymph Node Metastasis according to the SEER Registry. **J Breast Cancer**, v. 18, n. 2, p. 143-148, Jun 2015. doi: 10.4048/jbc.2015.18.2.143

MAUGHAN, K. L.; LUTTERBIE, M. A.; HAM, P. S. Treatment of breast cancer. **Am Fam Physician**, v. 81, n. 11, p. 1339-1346, Jun 1 2010. doi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20521754>.

METZGER FILHO, O.; IGNATIADIS, M.; SOTIRIOU, C. Genomic Grade Index: An important tool for assessing breast cancer tumor grade and prognosis. **Crit Rev Oncol Hematol**, v. 77, n. 1, p. 20-29, Jan 2011. doi: 10.1016/j.critrevonc.2010.01.011

MICHAELS, A. Y.; KERALIYA, A. R.; TIRUMANI, S. H.; SHINAGARE, A. B. *et al.* Systemic treatment in breast cancer: a primer for radiologists. **Insights Imaging**, v. 7, n. 1, p. 131-144, Feb 2016. doi: 10.1007/s13244-015-0447-4

MICKEY, R. M.; GREENLAND, S. The impact of confounder selection criteria on effect estimation. **Am J Epidemiol**, v. 129, n. 1, p. 125-137, Jan 1989. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a115101

MIDDLETON, J. D.; STOVER, D. G.; HAI, T. Chemotherapy-Exacerbated Breast Cancer Metastasis: A Paradox Explainable by Dysregulated Adaptive-Response. **Int J Mol Sci**, v. 19, n. 11, Oct 26 2018. doi: 10.3390/ijms19113333

MILIGY, I. M.; TOSS, M. S.; GORRINGE, K. L.; LEE, A. H. S. *et al.* The clinical and biological significance of HER2 over-expression in breast ductal carcinoma in situ: a large study from a single institution. **Br J Cancer**, v. 120, n. 11, p. 1075-1082, May 2019. doi: 10.1038/s41416-019-0436-3

MOHAMMED, H.; RUSSELL, I. A.; STARK, R.; RUEDA, O. M. *et al.* Progesterone receptor modulates ER α action in breast cancer. **Nature**, v. 523, n. 7560, p. 313-317, 2015/07/01 2015. doi: 10.1038/nature14583

MOHAMMED, R. A.; ELLIS, I. O.; LEE, A. H.; MARTIN, S. G. Vascular invasion in breast cancer; an overview of recent prognostic developments and molecular pathophysiological mechanisms. **Histopathology**, v. 55, n. 1, p. 1-9, Jul 2009. doi: 10.1111/j.1365-2559.2008.03169.x

MOHAMMED, R. A.; MARTIN, S. G.; GILL, M. S.; GREEN, A. R. *et al.* Improved methods of detection of lymphovascular invasion demonstrate that it is the predominant method of

vascular invasion in breast cancer and has important clinical consequences. **Am J Surg Pathol**, v. 31, n. 12, p. 1825-1833, Dec 2007. doi: 10.1097/PAS.0b013e31806841f6

MORIGI, C. Highlights from the 15th St Gallen International Breast Cancer Conference 15-18 March, 2017, Vienna: tailored treatments for patients with early breast cancer. **Ecancermedicalsecience**, v. 11, p. 732, 2017. doi: 10.3332/ecancer.2017.732

MORIGI, C. Highlights of the 16th St Gallen International Breast Cancer Conference, Vienna, Austria, 20-23 March 2019: personalised treatments for patients with early breast cancer. **Ecancermedicalsecience**, v. 13, p. 924, 2019. doi: 10.3332/ecancer.2019.924

MUKHOPADHYAY, U. K.; OTURKAR, C. C.; ADAMS, C.; WICKRAMASEKERA, N. *et al.* TP53 Status as a Determinant of Pro- vs Anti-Tumorigenic Effects of Estrogen Receptor-Beta in Breast Cancer. **J Natl Cancer Inst**, v. 111, n. 11, p. 1202-1215, Nov 1 2019. doi: 10.1093/jnci/djz051

MULLER, A.; HOMEY, B.; SOTO, H.; GE, N. *et al.* Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. **Nature**, v. 410, n. 6824, p. 50-56, Mar 1 2001. doi: 10.1038/35065016

NEWMAN, L. A.; GRIFFITH, K. A.; JATOI, I.; SIMON, M. S. *et al.* Meta-analysis of survival in African American and white American patients with breast cancer: ethnicity compared with socioeconomic status. **J Clin Oncol**, v. 24, n. 9, p. 1342-1349, Mar 20 2006. doi: 10.1200/JCO.2005.03.3472

NG, C. H.; PATHY, N. B.; TAIB, N. A.; HO, G. F. *et al.* Do clinical features and survival of single hormone receptor positive breast cancers differ from double hormone receptor positive breast cancers? **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 15, n. 18, p. 7959-7964, 2014. doi: 10.7314/apjcp.2014.15.18.7959

NIH. **Historical Staging and Coding Manuals**. 2022a. Disponível em: <https://seer.cancer.gov/tools/codingmanuals/historical.html>. Acesso em: 14/06/2022.

NIH. **Overview of the SEER Program**. 2022b. Disponível em: <https://seer.cancer.gov/about/overview.html>. Acesso em: 14/06/2022.

NIH. **SEER Acknowledgment of Treatment Data Limitations**. 2022c. Disponível em: <https://seer.cancer.gov/data-software/documentation/seerstat/nov2020/treatment-limitations-nov2020.html>. Acesso em: 14/06/2022.

NIH. **SEER Registrar Staging Assistant**. 2022d. Disponível em: [https://staging.seer.cancer.gov/cs/schema/02.05.50/breast/?breadcrumbs=\(~schema_list~\)](https://staging.seer.cancer.gov/cs/schema/02.05.50/breast/?breadcrumbs=(~schema_list~)). Acesso em: 14/06/2022.

NITZ, U.; GLUZ, O.; CHRISTGEN, M.; KATES, R. E. *et al.* Reducing chemotherapy use in clinically high-risk, genomically low-risk pN0 and pN1 early breast cancer patients: five-year data from the prospective, randomised phase 3 West German Study Group (WSG) PlanB trial. **Breast Cancer Res Treat**, v. 165, n. 3, p. 573-583, Oct 2017. doi: 10.1007/s10549-017-4358-6

NOONE, A.; LUND, J. L.; MARIOTTO, A.; CRONIN, K. *et al.* Comparison of SEER Treatment Data With Medicare Claims. v. 54, n. 9, p. e55-e64, 2016. doi: 10.1097/mlr.0000000000000073

ONO, M.; TSUDA, H.; YOSHIDA, M.; SHIMIZU, C. *et al.* Prognostic Significance of Progesterone Receptor Expression in Estrogen-Receptor Positive, HER2-Negative, Node-Negative Invasive Breast Cancer With a Low Ki-67 Labeling Index. **Clin Breast Cancer**, v. 17, n. 1, p. 41-47, Feb 2017. doi: 10.1016/j.clbc.2016.06.012

ORUCEVIC, A.; BELL, J. L.; KING, M.; MCNABB, A. P. *et al.* Nomogram update based on TAILORx clinical trial results - Oncotype DX breast cancer recurrence score can be predicted using clinicopathologic data. **Breast**, v. 46, p. 116-125, Aug 2019. doi: 10.1016/j.breast.2019.05.006

OUYANG, F. S.; GUO, B. L.; HUANG, X. Y.; OUYANG, L. Z. *et al.* A nomogram for individual prediction of vascular invasion in primary breast cancer. **Eur J Radiol**, v. 110, p. 30-38, Jan 2019. doi: 10.1016/j.ejrad.2018.11.013

OZMEN, V.; CAKAR, B.; GOKMEN, E.; OZDOGAN, M. *et al.* Cost effectiveness of Gene Expression Profiling in Patients with Early-Stage Breast Cancer in a Middle-Income Country, Turkey: Results of a Prospective Multicenter Study. **Eur J Breast Health**, v. 15, n. 3, p. 183-190, Jul 2019. doi: 10.5152/ejbh.2019.4761

PAGANI, O.; SENKUS, E.; WOOD, W.; COLLEONI, M. *et al.* International guidelines for management of metastatic breast cancer: can metastatic breast cancer be cured? **J Natl Cancer Inst**, v. 102, n. 7, p. 456-463, Apr 7 2010. doi: 10.1093/jnci/djq029

PAIK, S.; SHAK, S.; TANG, G.; KIM, C. *et al.* A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. **N Engl J Med**, v. 351, n. 27, p. 2817-2826, Dec 30 2004. doi: 10.1056/NEJMoa041588

PAIK, S.; TANG, G.; SHAK, S.; KIM, C. *et al.* Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. **J Clin Oncol**, v. 24, n. 23, p. 3726-3734, Aug 10 2006. doi: 10.1200/JCO.2005.04.7985

PALMER, J. R.; VISCIDI, E.; TROESTER, M. A.; HONG, C. C. *et al.* Parity, lactation, and breast cancer subtypes in African American women: results from the AMBER Consortium. **J Natl Cancer Inst**, v. 106, n. 10, Oct 2014. doi: 10.1093/jnci/dju237

PAN, Y.; YUAN, Y.; LIU, G.; WEI, Y. P53 and Ki-67 as prognostic markers in triple-negative breast cancer patients. **PLoS One**, v. 12, n. 2, p. e0172324, 2017. doi: 10.1371/journal.pone.0172324

PANG, M. F.; GEORGOUDAKI, A. M.; LAMBUT, L.; JOHANSSON, J. *et al.* TGF-beta1-induced EMT promotes targeted migration of breast cancer cells through the lymphatic system by the activation of CCR7/CCL21-mediated chemotaxis. **Oncogene**, v. 35, n. 6, p. 748-760, Feb 11 2016. doi: 10.1038/onc.2015.133

PARKER, J. S.; MULLINS, M.; CHEANG, M. C.; LEUNG, S. *et al.* Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. **J Clin Oncol**, v. 27, n. 8, p. 1160-1167, Mar 10 2009. doi: 10.1200/JCO.2008.18.1370

PEREIRA, B.; CHIN, S. F.; RUEDA, O. M.; VOLLAN, H. K. *et al.* The somatic mutation profiles of 2,433 breast cancers refines their genomic and transcriptomic landscapes. **Nat Commun**, v. 7, p. 11479, May 10 2016. doi: 10.1038/ncomms11479

PERNAS, S.; PETIT, A.; CLIMENT, F.; PARE, L. *et al.* PAM50 Subtypes in Baseline and Residual Tumors Following Neoadjuvant Trastuzumab-Based Chemotherapy in HER2-Positive Breast Cancer: A Consecutive-Series From a Single Institution. **Front Oncol**, v. 9, p. 707, 2019. doi: 10.3389/fonc.2019.00707

PITOLLI, C.; WANG, Y.; MANCINI, M.; SHI, Y. *et al.* Do Mutations Turn p53 into an Oncogene? **Int J Mol Sci**, v. 20, n. 24, Dec 11 2019. doi: 10.3390/ijms20246241

PLACE, A. E.; JIN HUH, S.; POLYAK, K. The microenvironment in breast cancer progression: biology and implications for treatment. **Breast Cancer Res**, v. 13, n. 6, p. 227, 2011. doi: 10.1186/bcr2912

PRAT, A.; CHEANG, M. C.; MARTIN, M.; PARKER, J. S. *et al.* Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer. **J Clin Oncol**, v. 31, n. 2, p. 203-209, Jan 10 2013. doi: 10.1200/JCO.2012.43.4134

PULIDO, C.; VENDRELL, I.; FERREIRA, A. R.; CASIMIRO, S. *et al.* Bone metastasis risk factors in breast cancer. **Ecancermedalscience**, v. 11, p. 715, 2017. doi: 10.3332/ecancer.2017.715

PURDIE, C. A.; QUINLAN, P.; JORDAN, L. B.; ASHFIELD, A. *et al.* Progesterone receptor expression is an independent prognostic variable in early breast cancer: a population-based study. **Br J Cancer**, v. 110, n. 3, p. 565-572, Feb 4 2014. doi: 10.1038/bjc.2013.756

QI, M.; XIONG, X. Promoter hypermethylation of RARbeta2, DAPK, hMLH1, p14, and p15 is associated with progression of breast cancer: A PRISMA-compliant meta-analysis. **Medicine (Baltimore)**, v. 97, n. 51, p. e13666, Dec 2018. doi: 10.1097/MD.00000000000013666

RAGAGE, F.; DEBLED, M.; MACGROGAN, G.; BROUSTE, V. *et al.* Is it useful to detect lymphovascular invasion in lymph node-positive patients with primary operable breast cancer? v. 116, n. 13, p. 3093-3101, 2010. doi: <https://doi.org/10.1002/cncr.25137>

RAJ-KUMAR, P. K.; LIU, J.; HOOKE, J. A.; KOVATICH, A. J. *et al.* PCA-PAM50 improves consistency between breast cancer intrinsic and clinical subtyping reclassifying a subset of luminal A tumors as luminal B. **Sci Rep**, v. 9, n. 1, p. 7956, May 28 2019. doi: 10.1038/s41598-019-44339-4

RAKHA, E. A.; EL-SAYED, M. E.; LEE, A. H. E.; ELSTON, C. W. *et al.* Prognostic Significance of Nottingham Histologic Grade in Invasive Breast Carcinoma. v. 26, n. 19, p. 3153-3158, 2008. doi: 10.1200/jco.2007.15.5986

RAKHA, E. A.; LEE, A. H.; ROBERTS, J.; VILLENA SALINAS, N. M. *et al.* Low-estrogen receptor-positive breast cancer: the impact of tissue sampling, choice of antibody, and molecular subtyping. **J Clin Oncol**, v. 30, n. 23, p. 2929-2930; author reply 2931, Aug 10 2012. doi: 10.1200/JCO.2012.43.2831

RAKHA, E. A.; MARTIN, S.; LEE, A. H.; MORGAN, D. *et al.* The prognostic significance of lymphovascular invasion in invasive breast carcinoma. **Cancer**, v. 118, n. 15, p. 3670-3680, Aug 1 2012. doi: 10.1002/cncr.26711

RAKHA, E. A.; REIS-FILHO, J. S.; BAEHNER, F.; DABBS, D. J. *et al.* Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. **Breast Cancer Res**, v. 12, n. 4, p. 207, 2010. doi: 10.1186/bcr2607

RECHT, A.; EDGE, S. B.; SOLIN, L. J.; ROBINSON, D. S. *et al.* Postmastectomy radiotherapy: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. **J Clin Oncol**, v. 19, n. 5, p. 1539-1569, Mar 1 2001. doi: 10.1200/JCO.2001.19.5.1539

RESENDE, U.; CABELLO, C.; RAMALHO, S. O. B.; ZEFERINO, L. C. Prognostic assessment of breast carcinoma submitted to neoadjuvant chemotherapy with pathological non-complete response. **BMC Cancer**, v. 19, n. 1, p. 601, Jun 17 2019. doi: 10.1186/s12885-019-5812-0

RIVENBARK, A. G.; O'CONNOR, S. M.; COLEMAN, W. B. Molecular and cellular heterogeneity in breast cancer: challenges for personalized medicine. **Am J Pathol**, v. 183, n. 4, p. 1113-1124, Oct 2013. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.08.002

ROSES, R. E.; PAULSON, E. C.; SHARMA, A.; SCHUELLER, J. E. *et al.* HER-2/neu overexpression as a predictor for the transition from in situ to invasive breast cancer. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 18, n. 5, p. 1386-1389, May 2009. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-1101

RUSSO, J.; RUSSO, I. H. Development of the human breast. **Maturitas**, v. 49, n. 1, p. 2-15, Sep 24 2004. doi: 10.1016/j.maturitas.2004.04.011

SADIGHI, S.; ZOKAASADI, M.; KASAEIAN, A.; MAGHSUDI, S. *et al.* The effect of immunohistochemically detected p53 accumulation in prognosis of breast cancer; A retrospective survey of outcome. **PLoS One**, v. 12, n. 8, p. e0182444, 2017. doi: 10.1371/journal.pone.0182444

SAKORAFAS, G. H.; TSIOTOU, A. G.; BALSIGER, B. M. Axillary lymph node dissection in breast cancer--current status and controversies, alternative strategies and future perspectives. **Acta Oncol**, v. 39, n. 4, p. 455-466, 2000. doi: 10.1080/028418600750013366

SAMUELSON, E.; NILSSON, J.; WALENTINSSON, A.; SZPIRER, C. *et al.* Absence of Ras mutations in rat DMBA-induced mammary tumors. **Mol Carcinog**, v. 48, n. 2, p. 150-155, Feb 2009. doi: 10.1002/mc.20464

SANNINO, P.; SHOUSHA, S. Demonstration of oestrogen receptors in paraffin wax sections of breast carcinoma using the monoclonal antibody 1D5 and microwave oven processing. **J Clin Pathol**, v. 47, n. 1, p. 90-92, Jan 1994. doi: 10.1136/jcp.47.1.90

SARFATI, D.; BLAKELY, T.; PEARCE, N. Measuring cancer survival in populations: relative survival vs cancer-specific survival. **Int J Epidemiol**, v. 39, n. 2, p. 598-610, Apr 2010. doi: 10.1093/ije/dyp392

SASANPOUR, P.; SANDOUGH DARAN, S.; MOSAVI-JARRAHI, A.; MALEKZADEH, M. Predictors of Pathological Complete Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Iranian Breast Cancer Patients. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 19, n. 9, p. 2423-2427, Sep 26 2018. doi: 10.22034/APJCP.2018.19.9.2423

SAÚDE, M. D. **PORTARIA CONJUNTA Nº 5, DE 18 DE ABRIL DE 2019 - Aprova as Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Carcinoma de Mama.** 2019. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/protocolos-clinicos-e-diretrizes-terapeuticas-pcdt/arquivos/2019/ddt_carcinoma_cancerde_mama.pdf. Acesso em: 27/07/2021.

SAUVE, K.; LEPAGE, J.; SANCHEZ, M.; HEVEKER, N. *et al.* Positive feedback activation of estrogen receptors by the CXCL12-CXCR4 pathway. **Cancer Res**, v. 69, n. 14, p. 5793-5800, Jul 15 2009. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4924

SESTAK, I.; BUUS, R.; CUZICK, J.; DUBSKY, P. *et al.* Comparison of the Performance of 6 Prognostic Signatures for Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer: A Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial. **JAMA Oncol**, v. 4, n. 4, p. 545-553, Apr 1 2018. doi: 10.1001/jamaoncol.2017.5524

SGROI, D. C.; SESTAK, I.; CUZICK, J.; ZHANG, Y. *et al.* Prediction of late distant recurrence in patients with oestrogen-receptor-positive breast cancer: a prospective comparison of the

breast-cancer index (BCI) assay, 21-gene recurrence score, and IHC4 in the TransATAC study population. **Lancet Oncol**, v. 14, n. 11, p. 1067-1076, Oct 2013. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70387-5

SHARMA, Y.; MILADI, M.; DUKARE, S.; BOULAY, K. *et al.* A pan-cancer analysis of synonymous mutations. **Nat Commun**, v. 10, n. 1, p. 2569, Jun 12 2019. doi: 10.1038/s41467-019-10489-2

SHEN, S.; XIAO, G.; DU, R.; HU, N. *et al.* Predictors of lymphovascular invasion identified from pathological factors in Chinese patients with breast cancer. **Oncotarget**, v. 9, n. 2, p. 2468-2474, Jan 5 2018. doi: 10.18632/oncotarget.23503

SHEN, S. D.; ZHONG, S. Z.; WANG, C. Z.; HUANG, W. H. Correlation of lymphovascular invasion with clinicopathological factors in invasive breast cancer: a meta-analysis. **Int J Clin Exp Med**, v. 8, n. 10, p. 17789-17795, 2015. doi: 4694270. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26770370>.

SHENDURE, J.; AKEY, J. M. The origins, determinants, and consequences of human mutations. **Science**, v. 349, n. 6255, p. 1478-1483, Sep 25 2015. doi: 10.1126/science.aaa9119

SHOUSHA, S.; PESTON, D. Immunohistochemical demonstration of oestrogen and progesterone receptors in paraffin sections of breast carcinoma. **Current Diagnostic Pathology**, v. 4, n. 3, p. 176-180, 1997/09/01/ 1997. doi: 10.1016/S0968-6053(05)80006-7

SIDDIQUI, I. A.; SANNA, V.; AHMAD, N.; SECHI, M. *et al.* Resveratrol nanoformulation for cancer prevention and therapy. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1348, n. 1, p. 20-31, Aug 2015. doi: 10.1111/nyas.12811

SLEMBROUCK, L.; VANDEN BEMPT, I.; WILDIERS, H.; SMEETS, A. *et al.* Concordance between results of inexpensive statistical models and multigene signatures in patients with ER+/HER2- early breast cancer. **Mod Pathol**, v. 34, n. 7, p. 1297-1309, Jul 2021. doi: 10.1038/s41379-021-00743-8

SMITH, B. D.; BELLON, J. R.; BLITZBLAU, R.; FREEDMAN, G. *et al.* Radiation therapy for the whole breast: Executive summary of an American Society for Radiation Oncology (ASTRO) evidence-based guideline. **Pract Radiat Oncol**, v. 8, n. 3, p. 145-152, May - Jun 2018. doi: 10.1016/j.prro.2018.01.012

SOPIK, V.; NAROD, S. A. The relationship between tumour size, nodal status and distant metastases: on the origins of breast cancer. **Breast Cancer Res Treat**, v. 170, n. 3, p. 647-656, Aug 2018. doi: 10.1007/s10549-018-4796-9

SOTIRIOU, C.; WIRAPATI, P.; LOI, S.; HARRIS, A. *et al.* Gene expression profiling in breast cancer: understanding the molecular basis of histologic grade to improve prognosis. **J Natl Cancer Inst**, v. 98, n. 4, p. 262-272, Feb 15 2006. doi: 10.1093/jnci/djj052

STEFANOVIC, S.; DEUTSCH, T. M.; WIRTZ, R.; HARTKOPF, A. *et al.* Molecular Subtype Conversion between Primary and Metastatic Breast Cancer Corresponding to the Dynamics of Apoptotic and Intact Circulating Tumor Cells. **Cancers (Basel)**, v. 11, n. 3, Mar 11 2019. doi: 10.3390/cancers11030342

STEMMLER, M. P.; ECCLES, R. L.; BRABLETZ, S.; BRABLETZ, T. Non-redundant functions of EMT transcription factors. **Nat Cell Biol**, v. 21, n. 1, p. 102-112, Jan 2019. doi: 10.1038/s41556-018-0196-y

SUI, M.; ZHANG, H.; FAN, W. The role of estrogen and estrogen receptors in chemoresistance. **Curr Med Chem**, v. 18, n. 30, p. 4674-4683, 2011. doi: 10.2174/092986711797379348

SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; LAVERSANNE, M. *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA Cancer J Clin**, v. 71, n. 3, p. 209-249, May 2021. doi: 10.3322/caac.21660

SUZUKI, T.; KAMIYA, H. Mutations induced by 8-hydroxyguanine (8-oxo-7,8-dihydroguanine), a representative oxidized base, in mammalian cells. **Genes Environ**, v. 39, p. 2, 2017. doi: 10.1186/s41021-016-0051-y

TANG, Q.; SU, Z.; GU, W.; RUSTGI, A. K. Mutant p53 on the Path to Metastasis. **Trends Cancer**, v. 6, n. 1, p. 62-73, Jan 2020. doi: 10.1016/j.trecan.2019.11.004

TRAN, D. D.; CORSA, C. A.; BISWAS, H.; AFT, R. L. *et al.* Temporal and spatial cooperation of Snail1 and Twist1 during epithelial-mesenchymal transition predicts for human breast cancer recurrence. **Mol Cancer Res**, v. 9, n. 12, p. 1644-1657, Dec 2011. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-11-0371

TROXELL, M. L.; LONG, T.; HORNICK, J. L.; AMBAYE, A. B. *et al.* Comparison of Estrogen and Progesterone Receptor Antibody Reagents Using Proficiency Testing Data. **Arch Pathol Lab Med**, v. 141, n. 10, p. 1402-1412, Oct 2017. doi: 10.5858/arpa.2016-0497-OA

TRUONG, P. T.; YONG, C. M.; ABNOUSI, F.; LEE, J. *et al.* Lymphovascular invasion is associated with reduced locoregional control and survival in women with node-negative breast cancer treated with mastectomy and systemic therapy. **J Am Coll Surg**, v. 200, n. 6, p. 912-921, Jun 2005. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2005.02.010

TSAI, J. H.; YANG, J. Epithelial-mesenchymal plasticity in carcinoma metastasis. **Genes Dev**, v. 27, n. 20, p. 2192-2206, Oct 15 2013. doi: 10.1101/gad.225334.113

TURASHVILI, G.; BOUCHAL, J.; BURKADZE, G.; KOLAR, Z. Wnt signaling pathway in mammary gland development and carcinogenesis. **Pathobiology**, v. 73, n. 5, p. 213-223, 2006. doi: 10.1159/000098207

TURNER, B. M.; SKINNER, K. A.; TANG, P.; JACKSON, M. C. *et al.* Use of modified Magee equations and histologic criteria to predict the Oncotype DX recurrence score. **Mod Pathol**, v. 28, n. 7, p. 921-931, Jul 2015. doi: 10.1038/modpathol.2015.50

VAN DEN EYNDEN, G. G.; VAN DER AUWERA, I.; VAN LAERE, S. J.; COLPAERT, C. G. *et al.* Distinguishing blood and lymph vessel invasion in breast cancer: a prospective immunohistochemical study. **Br J Cancer**, v. 94, n. 11, p. 1643-1649, Jun 5 2006. doi: 10.1038/sj.bjc.6603152

VEGA, S.; MORALES, A. V.; OCANA, O. H.; VALDES, F. *et al.* Snail blocks the cell cycle and confers resistance to cell death. **Genes Dev**, v. 18, n. 10, p. 1131-1143, May 15 2004. doi: 10.1101/gad.294104

VENEMA, C. M.; BENSE, R. D.; STEENBRUGGEN, T. G.; NIENHUIS, H. H. *et al.* Consideration of breast cancer subtype in targeting the androgen receptor. **Pharmacol Ther**, v. 200, p. 135-147, Aug 2019. doi: 10.1016/j.pharmthera.2019.05.005

VENET, D.; FIMERELI, D.; ROTHE, F.; BOECKX, B. *et al.* Phylogenetic reconstruction of breast cancer reveals two routes of metastatic dissemination associated with distinct clinical outcome. **EBioMedicine**, v. 56, p. 102793, Jun 2020. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102793

VENET, D.; FIMERELI, D.; ROTHÉ, F.; BOECKX, B. *et al.* Phylogenetic reconstruction of breast cancer reveals two routes of metastatic dissemination associated with distinct clinical outcome. **EBioMedicine**, v. 56, 2020. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102793

VIALE, G.; DE SNOO, F. A.; SLAETS, L.; BOGAERTS, J. *et al.* Immunohistochemical versus molecular (BluePrint and MammaPrint) subtyping of breast carcinoma. Outcome results from the EORTC 10041/BIG 3-04 MINDACT trial. **Breast Cancer Res Treat**, v. 167, n. 1, p. 123-131, Jan 2018. doi: 10.1007/s10549-017-4509-9

VIALE, G.; HANLON NEWELL, A. E.; WALKER, E.; HARLOW, G. *et al.* Ki-67 (30-9) scoring and differentiation of Luminal A- and Luminal B-like breast cancer subtypes. **Breast Cancer Res Treat**, v. 178, n. 2, p. 451-458, Nov 2019. doi: 10.1007/s10549-019-05402-w

VIEIRA, A. F.; SCHMITT, F. An Update on Breast Cancer Multigene Prognostic Tests-Emergent Clinical Biomarkers. **Front Med (Lausanne)**, v. 5, p. 248, 2018. doi: 10.3389/fmed.2018.00248

VON ELM, E.; ALTMAN, D. G.; EGGER, M.; POCOCK, S. J. *et al.* The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. **Ann Intern Med**, v. 147, n. 8, p. 573-577, Oct 16 2007. doi: 10.7326/0003-4819-147-8-200710160-00010

WALSH, I. M.; BOWMAN, M. A.; SOTO SANTARRIAGA, I. F.; RODRIGUEZ, A. *et al.* Synonymous codon substitutions perturb cotranslational protein folding in vivo and impair cell fitness. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 117, n. 7, p. 3528-3534, Feb 18 2020. doi: 10.1073/pnas.1907126117

WANG, D. Y.; JIANG, Z.; BEN-DAVID, Y.; WOODGETT, J. R. *et al.* Molecular stratification within triple-negative breast cancer subtypes. **Sci Rep**, v. 9, n. 1, p. 19107, Dec 13 2019. doi: 10.1038/s41598-019-55710-w

WANG, J.; SANG, D.; XU, B.; YUAN, P. *et al.* Value of Breast Cancer Molecular Subtypes and Ki67 Expression for the Prediction of Efficacy and Prognosis of Neoadjuvant Chemotherapy in a Chinese Population. **Medicine (Baltimore)**, v. 95, n. 18, p. e3518, May 2016. doi: 10.1097/MD.00000000000003518

WANG, K.; ZHANG, X.; ZHENG, K.; YIN, X. D. *et al.* Predictors of internal mammary lymph nodes (IMLN) metastasis and disease-free survival comparison between IMLN-positive and IMLN-negative breast cancer patients: Results from Western China Clinical Cooperation

Group (WCCCG) database (CONSORT). **Medicine (Baltimore)**, v. 97, n. 28, p. e11296, Jul 2018. doi: 10.1097/MD.00000000000011296

WANGCHINDA, P.; ITHIMAKIN, S. Factors that predict recurrence later than 5 years after initial treatment in operable breast cancer. **World J Surg Oncol**, v. 14, n. 1, p. 223, Aug 24 2016. doi: 10.1186/s12957-016-0988-0

WEIDENFELD, K.; BARKAN, D. EMT and Stemness in Tumor Dormancy and Outgrowth: Are They Intertwined Processes? **Front Oncol**, v. 8, p. 381, 2018. doi: 10.3389/fonc.2018.00381

WEIGELT, B.; GEYER, F. C.; REIS-FILHO, J. S. Histological types of breast cancer: how special are they? **Mol Oncol**, v. 4, n. 3, p. 192-208, Jun 2010. doi: 10.1016/j.molonc.2010.04.004

WEIGELT, B.; PETERSE, J. L.; VAN 'T VEER, L. J. Breast cancer metastasis: markers and models. **Nat Rev Cancer**, v. 5, n. 8, p. 591-602, Aug 2005. doi: 10.1038/nrc1670

WEITZENFELD, P.; KOSSOVER, O.; KORNER, C.; MESHEL, T. *et al.* Chemokine axes in breast cancer: factors of the tumor microenvironment reshape the CCR7-driven metastatic spread of luminal-A breast tumors. **J Leukoc Biol**, v. 99, n. 6, p. 1009-1025, Jun 2016. doi: 10.1189/jlb.3MA0815-373R

WENDT, M. K.; TAYLOR, M. A.; SCHIEMANN, B. J.; SOSSEY-ALAOUI, K. *et al.* Fibroblast growth factor receptor splice variants are stable markers of oncogenic transforming growth factor beta1 signaling in metastatic breast cancers. **Breast Cancer Res**, v. 16, n. 2, p. R24, Mar 11 2014. doi: 10.1186/bcr3623

WHITE, J.; MAMOUNAS, E. Locoregional radiotherapy in patients with breast cancer responding to neoadjuvant chemotherapy: a paradigm for treatment individualization. **J Clin Oncol**, v. 32, n. 6, p. 494-495, Feb 20 2014. doi: 10.1200/JCO.2013.53.4974

WISHART, G. C.; RAKHA, E.; GREEN, A.; ELLIS, I. *et al.* Inclusion of KI67 significantly improves performance of the PREDICT prognostication and prediction model for early breast cancer. **BMC Cancer**, v. 14, p. 908, Dec 3 2014. doi: 10.1186/1471-2407-14-908

WOLFF, A. C.; HAMMOND, M. E.; HICKS, D. G.; DOWSETT, M. *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. **J Clin Oncol**, v. 31, n. 31, p. 3997-4013, Nov 1 2013. doi: 10.1200/JCO.2013.50.9984

WU, Y.; VADGAMA, J. V. Androgen Receptor as a Potential Target for Treatment of Breast Cancer. **Int J Cancer Res Mol Mech**, v. 3, n. 1, Apr 2017. doi: 10.16966/2381-3318.129

WYLD, L.; REED, M. W. R.; COLLINS, K.; BURTON, M. *et al.* Bridging the age gap in breast cancer: cluster randomized trial of the effects of two decision support interventions for older women with operable breast cancer on quality of life, survival, decision quality, and treatment choices. **Br J Surg**, v. Mar 23 2021. doi: 10.1093/bjs/znab005

WYLD, L.; REED, M. W. R.; MORGAN, J.; COLLINS, K. *et al.* Bridging the age gap in breast cancer. Impacts of omission of breast cancer surgery in older women with oestrogen receptor positive early breast cancer. A risk stratified analysis of survival outcomes and quality of life. **Eur J Cancer**, v. 142, p. 48-62, Jan 2021. doi: 10.1016/j.ejca.2020.10.015

YAMAMOTO, M.; HOSODA, M.; NAKANO, K.; JIA, S. *et al.* p53 accumulation is a strong predictor of recurrence in estrogen receptor-positive breast cancer patients treated with aromatase inhibitors. **Cancer Sci**, v. 105, n. 1, p. 81-88, Jan 2014. doi: 10.1111/cas.12302

YANG, M.; RAJAN, S.; ISSA, A. M. Cost effectiveness of gene expression profiling for early stage breast cancer: a decision-analytic model. **Cancer**, v. 118, n. 20, p. 5163-5170, Oct 15 2012. doi: 10.1002/cncr.27443

YE, X.; TAM, W. L.; SHIBUE, T.; KAYGUSUZ, Y. *et al.* Distinct EMT programs control normal mammary stem cells and tumour-initiating cells. **Nature**, v. 525, n. 7568, p. 256-260, Sep 10 2015. doi: 10.1038/nature14897

YE, Y.; QIU, T. H.; KAVANAUGH, C.; GREEN, J. E. Molecular mechanisms of breast cancer progression: lessons from mouse mammary cancer models and gene expression profiling. **Breast Dis**, v. 19, p. 69-82, 2004. doi: 10.3233/bd-2004-19109

YILDIRIM, E.; BERBEROGLU, U. Lymph node ratio is more valuable than level III involvement for prediction of outcome in node-positive breast carcinoma patients. **World J Surg**, v. 31, n. 2, p. 276-289, Feb 2007. doi: 10.1007/s00268-006-0487-5

ZANCONATO, F.; FORCATO, M.; BATTILANA, G.; AZZOLIN, L. *et al.* Genome-wide association between YAP/TAZ/TEAD and AP-1 at enhancers drives oncogenic growth. **Nat Cell Biol**, v. 17, n. 9, p. 1218-1227, Sep 2015. doi: 10.1038/ncb3216

ZHANG, L.; HUANG, Y.; FENG, Z.; WANG, X. *et al.* Comparison of breast cancer risk factors among molecular subtypes: A case-only study. **Cancer Med**, v. 8, n. 4, p. 1882-1892, Apr 2019. doi: 10.1002/cam4.2012

ZHAO, H.; GONG, Y. The Prognosis of Single Hormone Receptor-Positive Breast Cancer Stratified by HER2 Status. **Front Oncol**, v. 11, p. 643956, 2021. doi: 10.3389/fonc.2021.643956

ANEXOS

ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Avaliação da importância da margem cirúrgica no câncer de mama quanto à recidiva local e na sobrevida global.

Pesquisador: Rogerio Agenor de Araujo

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 33409214.8.0000.5152

Instituição Proponente: HOSPITAL DE CLINICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLANDIA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 803.826

Data da Relatoria: 05/09/2014

Situação do Parecer:

Pendente

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Responder às pendências em um documento (word) anexo e alterar no corpo do projeto os tópicos que forem diretamente impactados pelas respostas às pendências.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da importância da margem cirúrgica no câncer de mama quanto à recidiva local e na sobrevida global.

Pesquisador: Rogerio Agenor de Araujo

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 33409214.8.0000.5152

Instituição Proponente: HOSPITAL DE CLINICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLANDIA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 844.945

Data da Relatoria: 10/10/2014

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Data para entrega de Relatório Final ao CEP/UFU: dezembro de 2016.

OBS.: O CEP/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DA EMENDA**

Título da Pesquisa: Avaliação da importância da margem cirúrgica no câncer de mama quanto à recidiva local e na sobrevida global.

Pesquisador: Rogério Agenor de Araújo

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 33409214.8.0000.5152

Instituição Proponente: HOSPITAL DE CLINICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLANDIA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

UBERLANDIA, 20 de Outubro de 2020

Assinado por:
Karine Rezende de Oliveira
(Coordenador(a))

ANEXO 2 – FATORES BOOLEANOS PARA SELEÇÃO NO BANCO DE DADOS SEER

{Race, Sex, Year Dx.Sex} = ' Female'
 AND {Race and Age (case data only).Age recode with single ages and 85+} != '00 years','01 years','02 years','03 years','04 years','05 years','06 years','07 years','08 years','09 years','10 years','11 years','12 years','13 years','14 years','15 years','16 years','17 years','Unknown'
 AND {Race and Age (case data only).Race recode (White, Black, Other)} != ' Unknown'
 AND {Site and Morphology.Primary Site - labeled} = 'C50.0-Nipple','C50.1-Central portion of breast','C50.2-Upper-inner quadrant of breast','C50.3-Lower-inner quadrant of breast','C50.4-Upper-outer quadrant of breast','C50.5-Lower-outer quadrant of breast','C50.6-Axillary tail of breast','C50.8-Overlapping lesion of breast','C50.9-Breast, NOS'
 AND {Site and Morphology.ICD-O-3 Hist/behav, malignant} = '8500/3: Infiltrating duct carcinoma, NOS'
 AND {Site and Morphology.Laterality} = 'Not a paired site','Right - origin of primary','Left - origin of primary','Only one side - side unspecified'
 AND {Multiple Primary Fields.Sequence number} = 'One primary only'
 AND {Cause of Death (COD) and Follow-up.Survival months} != 0-5
 AND {Cause of Death (COD) and Follow-up.Survival months flag} = 'Complete dates are available and there are more than 0 days of survival'
 AND {Therapy.Reason no cancer-directed surgery} = 'Surgery performed'
 AND {Therapy.RX Summ--Surg Prim Site (1998+)} != 19,90-99
 AND {Cause of Death (COD) and Follow-up.SEER other cause of death classification} != 'N/A not seq 0-59'
 AND {County attributes - Time Dependent.Median household income inflation adj to 2019} != 'Unknown/missing/no match/Not 1990-2018'
 AND {Stage - 7th edition.Derived AJCC M, 7th ed (2010-2015)} = 'M0','M0(i+)'
 AND {Stage - 7th edition.Derived AJCC T, 7th ed (2010-2015)} != 'T0','Ta','Tis','Tispu','Tispd','T1mic','T1 NOS(s)','T1 NOS(m)','T1NOS','T1aNOS','NA','TX','Blank(s)'
 AND {Stage - 7th edition.Derived AJCC N, 7th ed (2010-2015)} != 'N1mi','N1NOS','N4','NA','NX','Blank(s)'
 AND {Extent of Disease.Breast Subtype (2010+)} = 'HR+/HER2- (Luminal A)'
 AND {Extent of Disease.ER Status Recode Breast Cancer (1990+)} = 'Positive','Negative'
 AND {Extent of Disease.PR Status Recode Breast Cancer (1990+)} = 'Positive','Negative'
 AND {Extent of Disease.Regional nodes examined (1988+)} != 99
 AND {Extent of Disease.Regional nodes positive (1988+)} != 95-99
 AND {Extent of Disease.CS tumor size (2004-2015)} = 1-995
 AND {Extent of Disease.CS extension (2004-2015)} != 950-999
 AND {Extent of Disease.CS lymph nodes (2004-2015)} != 130,150,155,255,257,290,510,610,735,740,745,810
 AND {Extent of Disease.CS Reg Node Eval (2004-2015)} != 0-2,5-6,8-9
 AND {Extent of Disease.CS Tumor Size/Ext Eval (2004-2015)} != 0-2,5-6,8-9
 AND {Extent of Disease.CS Mets Eval (2004-2015)} != 9
 AND {Extent of Disease.CS site-specific factor 6 (2004-2017 varying by schema)} != 888-988
 AND {Extent of Disease.CS site-specific factor 7 (2004-2017 varying by schema)} != 988-999
 AND {Extent of Disease.CS site-specific factor 15 (2004-2017 varying by schema)} != 988-999

AND {Site and Morphology.Grade (thru 2017)} = 'Well differentiated; Grade I','Moderately differentiated; Grade II','Poorly differentiated; Grade III'