

Impacto do fenótipo triplo-negativo no prognóstico de pacientes com câncer de mama de uma unidade de referência no Brasil central

Impact of triple negative phenotype on prognosis of breast cancer patients from a reference cancer unity in the central of Brazil

Reyner Abrantes Stival¹, Luís Roberto de Almeida Martins¹, Junelle Paganini², Gustavo Nogueira Caixeta³, Wilmar Jose Manoel⁴, Elbio Cândido de Paula⁵, Flavio Monteiro Ayres⁶, Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva⁷, Diego Franciel Marques Mühlbeier⁸, Vera Aparecida Saddi⁹

Descritores

Neoplasias da mama
Triplo-negativo
Prognóstico

Keywords

Breast neoplasms
Triple-negative
Prognosis

RESUMO

Introdução: O câncer de mama triplo-negativo inclui os tumores que não expressam receptores de estrógeno, receptores de progesterona e HER2. O subtipo triplo-negativo apresenta características mais agressivas, como aparecimento em idade mais precoce, estágio avançado ao diagnóstico, alta graduação histológica e nuclear, alto índice mitótico, maior frequência de metástases regionais e à distância, além de menor sobrevida. **Objetivo:** Comparar os aspectos clínicos e patológicos de 345 pacientes com carcinomas mamários tratadas em um hospital de referência na região Centro-oeste do Brasil, a fim de avaliar o impacto do fenótipo triplo-negativo no prognóstico das pacientes. **Metodologia:** As pacientes foram selecionadas no Laboratório de Anatomia Patológica da instituição e os dados clínicos e patológicos coletados a partir dos respectivos prontuários. A análise estatística empregou análise univariada e análise de sobrevida pelo método de Kaplan-Meier e Log-rank. **Resultados:** Os fatores prognósticos clássicos foram comprovados para o grupo, incluindo comprometimento de linfonodos regionais ($p < 0,001$), metástase à distância ($p < 0,001$) e tamanho do tumor ($p < 0,001$). Quando os tumores, distribuídos em dois grupos (TN e NTN), foram comparados, diferenças estatisticamente significativas foram observadas com relação ao grau nuclear ($p < 0,0001$) e à sobrevida em cinco anos ($p < 0,0001$), que variou de 70,3% para as pacientes NTN a 47,1% para as pacientes TN. **Conclusão:** Nossos resultados confirmam o perfil mais agressivo dos tumores TN que, independentemente dos fatores prognósticos clássicos dos carcinomas de mama, cursam com maior agressividade e maior taxa de mortalidade, requerendo assim maior atenção assistencial.

ABSTRACT

Introduction: Triple-negative breast cancers are tumors that don't express estrogen receptors, progesterone receptors and HER2. The triple-negative phenotype exhibits more aggressive characteristics, including

Trabalho realizado no Hospital Araújo Jorge da Associação de Combate ao Câncer em Goiás – Goiânia (GO), Brasil.

¹Graduandos do Departamento de Medicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-Goiás) – Goiânia (GO), Brasil.

²Biomédica. Mestre em Genética pela PUC-Goiás – Goiânia (GO), Brasil.

³Biomédico. Mestre em Biologia Molecular pela Universidade Federal de Goiás (UFG). Técnico do Laboratório de Imunoistoquímica do Hospital Araújo Jorge (HAJ)/Associação de Combate ao Câncer em Goiás (ACCG) – Goiânia (GO), Brasil.

⁴Mastologista e Cirurgião Oncológico do HAJ/ACCG e do Centro Brasileiro de Radioterapia, Oncologia e Mastologia (CEBROM). Mestre em Genética pela PUC-Goiás. Doutor em Ciências da Saúde pela UFG – Goiânia (GO), Brasil.

⁵Médico Patologista do Setor de Anatomia Patológica do HAJ/ACCG. Professor do Departamento de Patologia da UFG – Goiânia (GO), Brasil.

⁶Docente da Universidade Estadual de Goiás (UEG) – Goiânia (GO), Brasil.

⁷Docente do Departamento de Medicina da PUC-Goiás – Goiânia (GO), Brasil.

⁸Biomédico. Mestre em Genética pela PUC-Goiás – Goiânia (GO), Brasil.

⁹Docente da PUC-Goiás. Coordenadora do Laboratório de Transplante de Medula Óssea do HAJ/ACCG – Goiânia (GO), Brasil.

Endereço para correspondência: Vera Aparecida Saddi – Rua 11, 223, apto. 1.604 – Setor Oeste – CEP 74120-030 – Goiânia (GO), Brasil – E-mail: verasaddi@gmail.com

Recebido em: 25/06/2012. **Aceito em:** 14/11/2012.

early onset, high stage on diagnosis, elevated nuclear grade, high mytotic index, aggressive patterns of regional and distant metastasis, besides poor prognosis. Objective: To compare the clinical and pathological aspects of a group with 345 breast cancer patients treated in a referral hospital in the center of Brazil, in order to compare the impact of triple-negative phenotype on the patient prognosis. Methods: Patients were selected in the Pathology Laboratory of the institution. Clinical and pathological data were collected from the respective clinical files. Statistical methods comprised univariate analysis and survival curves were generated by using Kaplan-Meier and Log-rank tests. Results: Classic prognostic factors were confirmed for the whole group, including regional lymph nodes metastasis ($p < 0.001$), distant metastasis ($p < 0.001$) and tumor size ($p < 0.001$). By comparing the two groups of breast tumors (TN and NTN), significant statistical differences were observed concerning nuclear grade ($p < 0.0001$) and five year survival ($p < 0.0001$), which varied from 70.3% for NTN patients to 47.1% for TN patients. Conclusion: Our results reinforce the aggressive profile of triple-negative breast cancer that, despite of the classic prognostic factors described for breast cancer, evolves with higher aggressiveness and elevated mortality rates, requiring special attention.

Introdução

Apesar de inúmeros avanços nas pesquisas sobre o câncer de mama, este tipo de neoplasia ainda apresenta altas taxas de incidência e de mortalidade em todo o mundo. Nos Estados Unidos, o câncer de mama representa um em cada três cânceres diagnosticados em mulheres¹ e segundo dados do Instituto Nacional de Câncer, no Brasil, em 2012, são esperados 52.680 novos casos da doença. No ano de 2008, foram registradas 12.098 mortes por câncer de mama no Brasil, sendo 11.969 mulheres e 129 homens. Nas regiões Sul, Sudeste, Centro-oeste e Nordeste, o câncer de mama é o tumor mais frequente depois do câncer de pele não melanoma e o de maior mortalidade entre as mulheres brasileiras².

Fatores como etnia, idade, hábitos alimentares, estilo de vida, fatores reprodutivos, uso de reposição hormonal, exposição a fatores ambientais, história familiar de câncer de mama, presença de mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 e a alta densidade mamária interferem no desenvolvimento e no diagnóstico desses tumores^{3,4}.

Na tentativa de alterar o curso da doença e diminuir sua mortalidade, esforços têm sido direcionados para a descoberta de novos fatores diagnósticos e prognósticos. Porém, o câncer de mama não é uma doença homogênea. Compreende vários subgrupos, que variam, consideravelmente, de acordo com a microscopia, o aspecto molecular e o comportamento clínico. Uma classificação molecular foi proposta nos últimos anos para categorizar os subgrupos de câncer de mama, com base no padrão de expressão gênica⁵. Quatro subgrupos emergiram desta classificação, sendo dois correspondentes aos tumores com receptores de estrógenos positivos (luminal A e B e normal-símile) e dois com receptores de estrógenos negativos (basal-símile e HER2-positivo). Apesar da relevância desta classificação com relação ao diagnóstico e o prognóstico

dos tumores mamários, sua aplicação na clínica ainda é dificultada pelo alto custo e por limitações técnicas presentes na maioria dos centros que tratam essa neoplasia^{6,7}.

A denominação câncer de mama triplo-negativo foi adotada com base na ausência dos receptores de estrógenos, progesterona e do receptor de fator de crescimento da epiderme HER2, comumente detectados por imunoistoquímica. No final da década de 1990, os mastologistas se conscientizaram a respeito dos carcinomas triplo-negativos, reconhecendo tais tumores como biologicamente mais agressivos e mais difíceis de serem tratados, devido à falta de expressão dos alvos terapêuticos convencionais⁸.

Os tumores de mama triplo-negativos apresentam características moleculares e clínicas superpostas às dos tumores definidos, pelos padrões de expressão gênica, como do tipo basal. Além dessas características, os carcinomas triplo-negativos são comumente descritos em mulheres com idade inferior a 50 anos e apresentam comportamento mais agressivo⁹.

Dentre cerca de um milhão de casos de câncer de mama diagnosticados mundialmente em 2008, estima-se que 172.695 exibem o fenótipo triplo-negativo. O câncer de mama triplo-negativo vem recebendo grande atenção das pesquisas científicas, dada à sua biologia única, o mau prognóstico, o padrão inicial de metástases e a relativa falta de alvos terapêuticos, quando comparados ao câncer de mama endócrino-sensível e HER2-positivo¹⁰. O prognóstico mais sombrio dos carcinomas mamários triplo-negativo tem sido descrito em vários estudos internacionais^{6,11,12}. Entretanto, na literatura brasileira, nenhum estudo comparando o impacto do fenótipo triplo-negativo no prognóstico dos carcinomas mamários foi encontrado, justificando o presente estudo.

Neste estudo, os aspectos clínicos e patológicos de pacientes com carcinomas mamários, tratadas em um hospital de referência, na região Centro-oeste do Brasil

(Hospital Araújo Jorge da Associação de Combate ao Câncer de Goiás), foram analisados e comparados, a fim de avaliar o impacto do fenótipo triplo-negativo no prognóstico das pacientes.

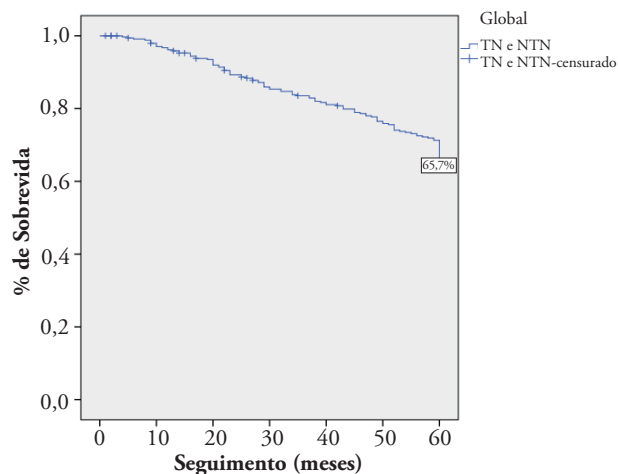
Metodologia

Este estudo consistiu de uma revisão descritiva, analítica e retrospectiva de 345 pacientes com carcinomas mamários, selecionadas a partir dos registros do Laboratório de Imunoistoquímica, do Setor de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge, em Goiânia (GO). As análises imunoistoquímicas foram realizadas no período de 1998 a 2002 e os dados clínico-patológicos foram sistematicamente coletados a partir dos respectivos prontuários. Na imunoistoquímica, foi utilizado o método da estreptoavidina-biotina-imunoperoxidase, com anticorpos específicos para receptores de estrógenos – RE (Clone 6F11), receptores de progesterona – RP (Clone ID5) e o receptor HER-2 (policlonal). Os casos triplo-negativos foram definidos pela marcação de receptores de estrógenos e de progesterona em menos de 10% das células tumorais e por marcação imunoistoquímica (+) ou (++) de HER2. Os resultados da análise imunoistoquímica possibilitaram a classificação dos tumores em dois grupos: triplo-negativos (TN) e não triplo-negativos (NTN). Variáveis clínicas e histopatológicas potencialmente associadas à sobrevida em cinco anos foram analisadas, incluindo idade ao diagnóstico, estadiamento TNM (tamanho do tumor, presença e número de metástases linfonodais regionais e aparecimento de metástases à distância) e grau nuclear. As curvas de sobrevida foram geradas usando o método de Kaplan-Meier (KM) e foram comparadas pelo teste de Log-rank. Todos os cálculos estatísticos foram realizados por meio do aplicativo *Statistical Package for Social Science* (SPSS) versão 20.0.0-2011. O seguimento das pacientes analisadas teve início na data do diagnóstico e foi concluído na data da última consulta ou na data do óbito, dentro de um período de 5 anos (60 meses). O seguimento de 60 meses foi completo para 337 pacientes (97%).

Resultados

Os dados clínicos, histopatológicos e imunoistoquímicos de 345 pacientes com carcinomas mamários foram analisados neste estudo. A sobrevida global em cinco anos observada para o grupo foi de 65,7% (Figura 1). O tamanho dos tumores afetou significativamente a sobrevida das pacientes com carcinomas mamários, variando de 72,2%, para as pacientes com tumores T1, 69,6%, para as pacientes com tumores T2, 47,6% para tumores T3 e 42,9% para tumores T4 ($p<0,004$) (Figura 2). O comprometimento de linfonodos regionais por

metástases também foi um fator prognóstico significativo para o grupo. Ao final de cinco anos, as pacientes que não apresentaram comprometimento de linfonodos regionais tiveram uma sobrevida de 82,1%, comparadas àquelas com comprometimento de um a três linfonodos, que apresentaram sobrevida de 62,0%; as que apresentaram comprometimento de quatro a nove linfonodos tiveram sobrevida de 52,4% e aquelas com 10 ou mais linfonodos comprometidos exibiram os menores valores de sobrevida, ou seja, 28,6% ($p<0,0001$) (Figura 3). Com relação ao desenvolvimento de metástases à distância, diferenças significativas foram observadas para as pacientes com tumores metastáticos, que apresentaram sobrevida de 33,1%, comparadas às pacientes com tumores não metastáticos, que apresentaram sobrevida de 85,5%, ao final de cinco anos de seguimento ($p<0,0001$) (Figura 4). O estadiamento clínico esteve significativamente associado



TN: triplo-negativo; NTN: não triplo negativo

Figura 1. Sobrevida global em 5 anos (60 meses) para as pacientes com carcinomas mamários

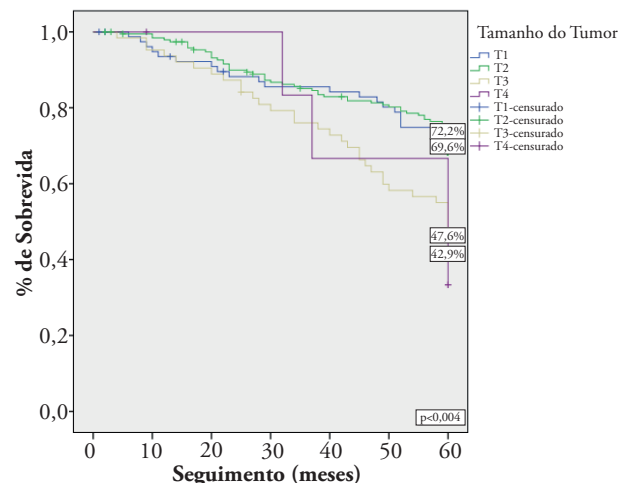


Figura 2. Sobrevida em 5 anos (60 meses) para as pacientes com carcinomas mamários comparando o tamanho dos tumores

de forma inversa com a sobrevida em cinco anos para as pacientes analisadas neste estudo, variando de 80,0% para as pacientes com estágio zero; 93,5% para as pacientes com estágio I; 75,8% para as pacientes com estágio II; 43,6% para as pacientes com estágio III; e 31,6% para as pacientes com estágio IV ($p<0,0001$) (Figura 5). Quando a sobrevida em cinco anos foi comparada para as pacientes com tumores TN e NTN, diferenças significativas também foram detectadas. Pacientes com tumores TN apresentaram sobrevida em cinco anos de 71,1%, enquanto as pacientes NTN apresentaram sobrevida de 47,2%, ao final de cinco anos ($p<0,0001$) (Figura 6).

De acordo com os marcadores imunoistoquímicos avaliados neste estudo, o grupo com fenótipo NTN compreendeu 273 pacientes (79,1%), enquanto o grupo com fenótipo TN compreendeu 72 pacientes (20,9%) (Figura 7).

Dentre todas as variáveis analisadas (idade, grau nuclear, tamanho do tumor, número de linfonodos axilares comprometidos por metástase, presença de metástase à distância, estadiamento clínico e sobrevida em cinco anos) para os dois grupos de pacientes (TN e NTN), diferenças significativas foram encontradas somente com relação ao grau nuclear e a sobrevida em cinco anos (Tabela 1). Com relação ao grau nuclear, observou-se que os tumores grau II foram mais frequentes no grupo NTN (73%), que no grupo TN (46%) ($p<0,0001$). Por outro lado, uma maior proporção de tumores pouco diferenciados (grau III) foi observada no grupo TN (44%), quando comparada ao grupo NTN (14%) ($p<0,0001$) (Tabela 1). Dentre os casos analisados neste estudo, 130 (37,6%) desenvolveram metástases à distância, dentro do período de cinco anos avaliados. Destas, 28% foram localizadas nos ossos, 21% nos pulmões, 14% no fígado, 6% no sistema nervoso central, 4% em linfonodos e o restante, 24%, em outros locais (Figura 8).

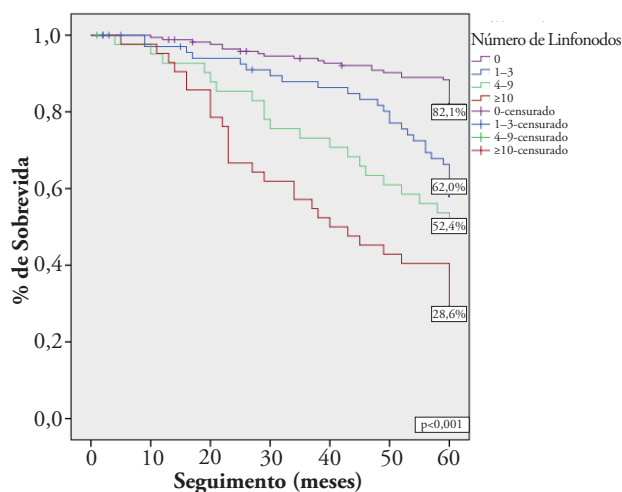


Figura 3. Sobrevida em 5 anos (60 meses) para as pacientes com carcinomas mamários comparando o número de linfonodos regionais comprometidos com metástases

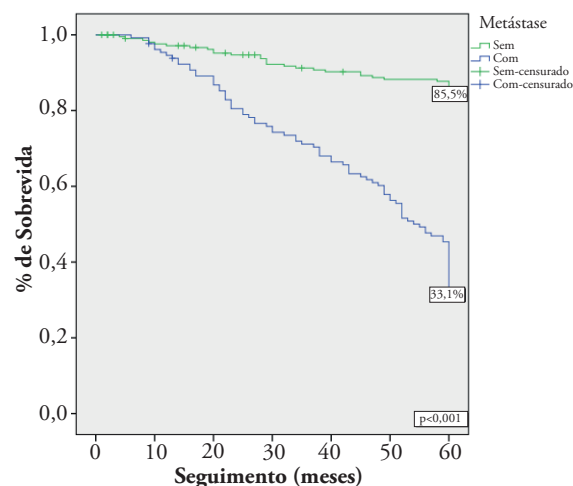


Figura 4. Sobrevida em 5 anos (60 meses) para as pacientes com carcinomas mamários comparando a presença de metástases à distância

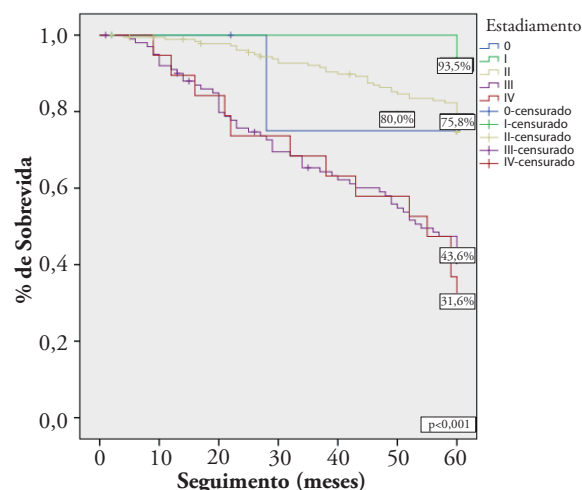
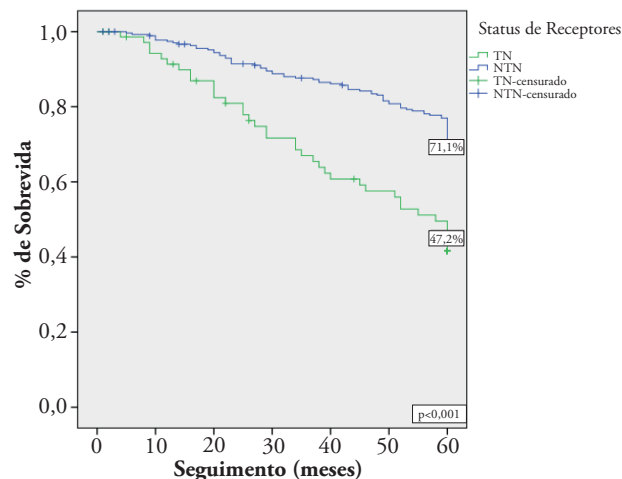
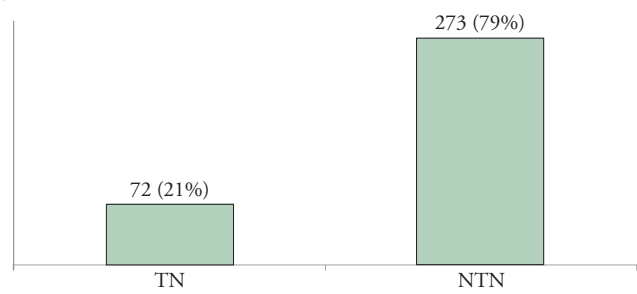


Figura 5. Sobrevida em 5 anos (60 meses) para as pacientes com carcinomas mamários comparando o estadiamento clínico



TN: triplo-negativo; NTN: não triplo negativo

Figura 6. Sobrevida em 5 anos (60 meses) para as pacientes com carcinomas mamários comparando o fenótipo triplo-negativo e não triplo-negativo



TN: triplo-negativo; NTN: não triplo negativo

Figura 7. Distribuição dos carcinomas mamários de acordo com a expressão de receptores hormonais e HER2

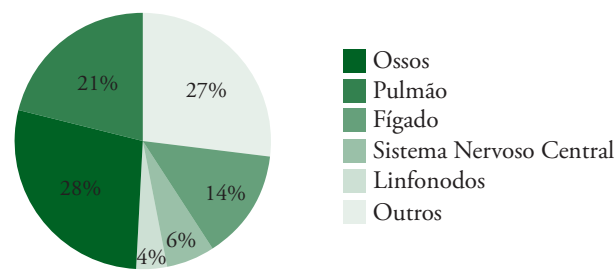


Figura 8. Distribuição dos principais sítios de metástases à distância para as pacientes com carcinomas mamários

Tabela 1. Análise univariada comparando aspectos clínicos e histopatológicos dos carcinomas de mama triplo-negativo e não triplo-negativo

Variáveis	Triplo-negativo		Não triplo-negativo		Valor p
	n	%	n	%	
Idade					
Média	55		52		0,2230
(Variação)	(26–84)		(23–90)		
<35	3	4	26	10	
≥35	69	96	247	90	
Grau nuclear					
I	6	8	17	6	<0,0001
II	33	46	199	73	
III	32	44	38	14	
NR	1	1	19	7	
Tamanho do tumor					
T1=≤2 cm	16	22	63	23	0,3483
T2=2 cm até ≤5cm	38	53	157	58	
T3=>5 cm	18	25	45	16	
T4=parede torácica/pele	0	0	7	3	
In situ	0	0	0	0	
NR	0	0	1	0	
Número de linfonodos					
0	38	53	131	48	0,3979
1–3	10	14	61	22	
4–9	11	15	31	11	
≥10	9	13	33	12	
NR	4	6	17	6	
Metástase à distância					
Sem	44	61	171	63	0,8121
Com	28	39	102	37	
Estadiamento					
0	2	3	4	1	0,6394
I	4	6	27	10	
II	42	58	140	51	
III	21	29	80	29	
IV	3	4	16	6	
NR	0	0	6	2	
Sobrevida em cinco anos					
Sim	41	57	71	26	<0,0001
Não	31	43	202	74	

NR: não relatado

Discussão

Neste estudo, 345 pacientes com carcinoma de mama foram comparadas com relação a expressão de receptores de estrógenos, receptores de progesterona e hiperexpressão de HER2, ou seja, características que definem os carcinomas triplo-negativos e não triplo-negativos⁷. Em função de seus aspectos histopatológicos e clínicos de maior agressividade¹³, os tumores TN têm sido exaustivamente estudados nos últimos anos. Entretanto, analisando a literatura nacional, não encontramos nenhum estudo comparando as características prognósticas desses tumores. O Hospital Araújo Jorge é um centro de referência para o tratamento do câncer na região Centro-oeste do Brasil e durante vários anos concentrou as análises imunoistoquímicas de marcadores tumorais no câncer de mama na região, possibilitando esse tipo de análise.

O grupo analisado incluiu 72 pacientes (20,9%) com carcinomas TN, permitindo a comparação com aspectos clínicos e histopatológicos de 273 (79,1%) carcinomas NTN. Dentre os aspectos clínicos de maior agressividade analisados, somente o grau nuclear mais elevado foi significativamente mais prevalente no grupo de carcinomas TN. Outros aspectos, como maior número de linfonodos regionais comprometidos com metástases, maior proporção de metástases à distância e o tamanho dos tumores não foram significativamente diferentes entre os dois grupos. Entretanto, quando a sobrevida em cinco anos foi comparada para os tumores TN e os NTN, resultados significativamente menores foram observados para o grupo de pacientes com tumores TN.

O prognóstico mais sombrio dos tumores TN foi confirmado em nosso estudo e resultados similares já foram relatados por diversos autores¹⁴⁻¹⁶. Nossos dados demonstraram que a sobrevida das pacientes com tumores TN foi 1,5 vezes menor, quando comparada ao grupo NTN (Figura 6). Tal achado confirma a natureza mais agressiva dos carcinomas TN, corroborando os resultados já descritos^{16,17}. Explorar as características moleculares dos carcinomas de mama triplo-negativos é o grande desafio do momento, principalmente pela atual falta de opções terapêuticas disponíveis para esse tipo de tumor. Trata-se de um fenótipo com alta incidência (mais de 15% do total de tumores de mama) e alta mortalidade^{18,19}, cuja biologia molecular ainda é pouco compreendida.

A classificação molecular dos carcinomas de mama, feita com base nos perfis de expressão gênica⁵, foi capaz de identificar a subclasse basal-símile que corresponde prioritariamente ao perfil triplo-negativo. A despeito de esta classificação ter ampliado o conhecimento acerca da biologia dos carcinomas triplo-negativos, incoerências baseadas no perfil de expressão gênica e na análise imunohistoquímica impedem a sobreposição dessas duas classificações¹⁹. Além disso, o termo basal-símile, por si, não apresenta impacto relevante nas decisões clínicas frente ao tratamento do câncer de mama²⁰.

Embora mais da metade dos carcinomas TN expresse o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), os primeiros testes com agentes anti-EGFR ainda não foram capazes de demonstrar sua eficácia clínica⁹. Estudos descrevem ainda que os carcinomas TN, tipicamente, expressam altos níveis de p53 mutante, reconhecida como um marcador de mau prognóstico, e que também estão associados a mutações não hereditárias no gene BRCA1²¹. O desenvolvimento de terapias clinicamente efetivas para estes tumores é imprescindível e vários candidatos a biomarcadores estão sob investigação²².

Atualmente, a identificação dos tumores TN é possível na maioria dos centros de tratamento do câncer de mama, porém, grandes dificuldades persistem no tratamento desses tumores. Além do pior prognóstico, os tumores de mama TN não recebem o benefício de terapias específicas, tais como com agentes anti-hormonais ou anti-HER2. A quimioterapia adjuvante convencional representa a única opção para o tratamento sistêmico desses tumores. Terapias específicas e mais eficazes para os carcinomas triplo-negativo representam um grande desafio clínico na atualidade e tratamentos baseados em alvos moleculares específicos, independentes de receptores hormonais e de HER2, encontram em desenvolvimento^{17,23}.

Nossos resultados confirmam o perfil mais agressivo dos tumores TN que, independentemente dos fatores clínicos e histopatológicos clássicos que definem o prognóstico dos carcinomas de mama em geral, cursam com maior agressividade e maior taxa de mortalidade, requerendo assim maior atenção assistencial.

Referências

1. DeSantis C, Siegel R, Bandi P, Jemal A. Breast cancer statistics, 2011. *CA Cancer J Clin*. 2011;61(6):408-18.
2. Brasil. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2011.
3. Fejerman L, Ziv E. Population differences in breast cancer severity. *Pharmacogenomics*. 2008;9(3):323-33.
4. Vogel VG. Epidemiology, genetics, and risk evaluation of postmenopausal women at risk of breast cancer. *Menopause*. 2008;15(4 Suppl):782-9.
5. Perou CM, Sørli T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406(6797):747-52.
6. Kassam F, Enright K, Dent R, Dranitsaris G, Myers J, Flynn C, et al. Survival outcomes for patients with metastatic triple-negative breast cancer: implications for clinical practice and trial design. *Clin Breast Cancer*. 2009;9(1):29-33.
7. Prat A, Ellis MJ, Perou CM. Practical implications of gene-expression-based assays for breast oncologists. *Nat Rev Clin Oncol*. 2011;9(1):48-57.

8. Cleator S, Heller W, Coombes RC. Triple-negative breast cancer: therapeutic options. *Lancet Oncol.* 2007;8(3):235-44.
9. Hudis CA, Gianni L. Triple-negative breast cancer: an unmet medical need. *Oncologist.* 2011;16Suppl 1:1-11.
10. Anders CK, Carey LA. Biology, metastatic patterns, and treatment of patients with triple-negative breast cancer. *Clin Breast Cancer.* 2009;9(Suppl 2):S73-81.
11. Chacón RD, Constanzo MV. Triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2010;12(Suppl 2):S3.
12. Akasbi Y, Bennis S, Abbass F, et al. Clinicopathological, therapeutic and prognostic features of the triple-negative tumors in moroccan breast cancer patients (experience of Hassan II university hospital in Fez). *BMC Res Notes.* 2011;4:500.
13. Fernandes GS, Calabrich A, Katz A. Câncer de mama triplo-negativo: aspectos clínicos, laboratoriais e terapêuticos. *Rev Bras Mastol.* 2009;19(2):76-82.
14. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res.* 2007;13;4429-34.
15. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, et al. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer.* 2007;109(1):25-32.
16. Rhee J, Han SW, Oh DY, Kim JH, Im SA, Han W et al. The clinicopathologic characteristics and prognostic significance of triple-negativity in node-negative breast cancer. *BMC Cancer.* 2008;8:307.
17. Gluz O, Liedtke C, Gottschalk N, Pusztai L, Nitz U, Harbeck N. Triple-negative breast cancer – current status and future directions. *Ann Oncol.* 2009; 20(12):1913-27.
18. de Ruijter TC, Veeck J, de Hoon JP, van Engeland M, Tjan-Heijnen VC. Characteristics of triple-negative breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2010;137(2):183-92.
19. Perou CM. Molecular stratification of triple-negative breast cancers. *Oncologist.* 2011;16(Suppl 1):61-70.
20. Badve S, Dabbs DJ, Schnitt SJ, Baehner FL, Decker T, Eusebi V et al. Basal-like and triple-negative breast cancers: a critical review with an emphasis on the implications for pathologists and oncologists. *Mod Pathol.* 2011;24(2):157-67.
21. Rakha EA, Elsheikh SE, Aleskandarany MA, Habashi HO, Green AR, Powe DG et al. Triple-negative breast cancer: distinguishing between basal and nonbasal subtypes. *Clin Cancer Res.* 2009;15(7):2302-10.
22. Griffiths CL, Olin JL. Triple negative breast cancer: a brief review of its characteristics and treatment options. *J Pharm Pract.* 2012;25(3):319-23.
23. Duffy MJ, McGowan PM, Crown J. Targeted therapy for triple-negative breast cancer: where are we? *Int J Cancer.* 2012;131(11):2471-7.