

EXPRESSÃO DA AROMATASE EM CARCINOMAS DE MAMA DUCTAIS INVASIVO E *IN SITU* PRESENTES NA MESMA MAMA

VILMAR MARQUES DE OLIVEIRA^{1*}, LECTICIA DE SIQUEIRA RIBEIRO², LIA MARA ROSSI³, MARIA ANTONIETA LONGO GALVÃO SILVA⁴, JOSÉ MENDES ALDRIGHI⁵, FÁBIO BAGNOLI⁶, JOSÉ FRANCISCO RINALDI⁷, TSUTOMU AOKI⁸

Trabalho realizado na Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP

RESUMO

OBJETIVO. Avaliar expressão da enzima aromatase nos carcinomas de mama ductais invasivos (CDI), *in situ* (CDIS), no epitélio e estromas adjacentes.

MÉTODOS. Foram avaliados 45 espécimes cirúrgicos provenientes de mastectomias e quadrantectomias com CDI e CDIS concomitantes de pacientes com estádios clínicos I e II. A análise da expressão da enzima aromatase foi realizada por meio de anticorpos policlonais antiaromatase e categorização das amostras de acordo com intensidade e número de células coradas.

RESULTADOS. Nos 45 casos de CDI a expressão da aromatase foi positiva em 32 espécimes (71%) e negativa em 13 (29%). Nos casos de CDIS, a positividade foi idêntica à observada no CDI, mostrando correlação positiva. No epitélio normal constatou-se expressão positiva em 19 casos (42,2%) e negativa nos outros 26 (57,8%), mostrando correlação positiva estatisticamente ($p < 0,01$), quando comparada com CDI e CDIS. Na análise do estroma normal a expressão da aromatase foi observada em apenas sete (15,5%) dos 45 casos avaliados, não apresentando correlação com nenhuma variável analisada para expressão da aromatase. A presença da aromatase no estroma tumoral foi positiva em 36 casos (80%) e negativa em 9 (20%), mostrando correlação estatisticamente com a expressão no CDI ($p < 0,01$) e no CDIS ($p < 0,01$). Ao se comparar a expressão da aromatase no CDI, CDIS, epitélio normal e estroma tumoral com os graus nuclear e histológico, tamanho tumoral e idade da paciente, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

CONCLUSÃO. Os resultados revelaram alta correlação entre expressão da aromatase no CDI, CDIS, epitélio normal e estroma tumoral, sugerindo possível mecanismo de ação autócrina e parácrina desta enzima na gênese do câncer de mama.

UNITERMOS: Aromatase. Neoplasias da mama. Carcinoma ductal. Carcinoma *in situ*.

*Correspondência:

Rua Dr. Cesário Mota Jr,
Nº 112
São Paulo-SP
CEP: 01221-020

INTRODUÇÃO

A biossíntese do estrogênio é catalizada pela enzima aromatase, membro da família do citocromo *P450* e produto do gene *CYP19*. Esta proteína responsabiliza-se pela ligação do esteroide androgênico C19 ao seu substrato, bem como pela catalização de uma série de reações que redundarão na formação do anel fenólico A característico dos estrogênios.¹

Mulheres após a menopausa com câncer de mama hormonalmente responsivo podem sintetizar estrogênio por meio da enzima aromatase

em tecidos periféricos como músculo, fígado e tecido adiposo; daí, o esteroide adentra na circulação, podendo dessa forma exercer efeitos nos tumores de mama por mecanismos endócrinos. Entretanto, a produção local de estrogênio no tecido tumoral, ou adjacente a este, e a estimulação da proliferação celular por mecanismos autócrinos ou parácrinos parece ser mais importante no determinismo do crescimento tumoral do que a ação de hormônios periféricos².

A elucidação da inter-relação da expressão da aromatase na gênese do câncer de mama, desde a iniciação até a sua

1. Doutor em Medicina - Professor assistente da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP
2. Especialista e pós-graduanda em Tocoginecologia pela Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP
3. Mestre em Ciências - Pós-graduanda em Ciências da Saúde pela Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP
4. Doutora em Medicina - Professor doutor pela Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo e do departamento de Anatomia Patológica da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, São Paulo, SP
5. Livre-docente - Professor titular da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo do departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, São Paulo, SP
6. Especialista e pós-graduando em Tocoginecologia pela Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP
7. Doutor em Medicina - Professor auxiliar da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo do departamento de Obstetrícia e Ginecologia e chefe da Clínica de Mastologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, São Paulo, SP
8. Doutor em Medicina - Professor adjunto da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; chefe do departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, São Paulo, SP

progressão, poderia facilitar uma abordagem eficaz sobre essa enzima como estratégia visando à prevenção e o tratamento do câncer mamário.³

Desta forma, nos propomos estudar sua expressão no CDI, CDIS, estroma tumoral, assim como no epitélio e estroma normais, relacionar a expressão da aromatase de acordo com o tamanho do tumor e com o grupo etário.

MÉTODOS

Estudo retrospectivo realizado no Hospital Central da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo (ISCMSP) durante 22 meses que contou com pacientes submetidas à mastectomias e quadrantectomias por câncer de mama estádios I e II. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Médicas da ISCMSP. Foram excluídos os casos nos quais as pacientes estavam sob tratamento quimioterápico, radioterápico ou hormonioterapia nas últimas oito semanas que antecederam a cirurgia, as que estavam gestantes ou lactentes, as portadoras de obesidade mórbida e doenças metabólicas.

Dos 45 espécimes cirúrgicos selecionados, 23 (51%) foram provenientes de cirurgias conservadoras (quadrantectomias ou setorectomias), enquanto 22 (49%) espécimes foram obtidos de mastectomias. A partir dos espécimes cirúrgicos, procedeu-se estudo histopatológico seguido de imunohistoquímica no serviço de Anatomia Patológica do departamento de Ciências Patológicas da ISCMSP. Em uma mesma lâmina, foram colocados cortes contendo CDI, CDIS, epitélio normal, estroma normal e estroma tumoral.

Os casos foram avaliados por dois examinadores e seus laudos emitidos, de acordo com a padronização da Organização Mundial de Saúde, pelo Serviço de Anatomia Patológica da ISCMSP. Estes laudos foram revistos e os diagnósticos histopatológicos confirmados, caracterizando a presença de CDIS e CDI.

A análise da expressão da enzima aromatase foi realizada por meio da utilização de anticorpos policlonais antiaromatase, obtidos a partir do soro de coelhos (3599-100, *Biovision research Products*), aplicados em uma diluição de 1:50. As amostras foram processadas simultaneamente fazendo uso de controles negativos. Os critérios utilizados para a avaliação em escore das expressões imunohistoquímicas da enzima aromatase foram os mesmos empregados por Ristimäki et al⁴. Entre os critérios avaliados para a determinação do escore foram considerados: Escore 0 - nenhuma célula corada; Escore 1 - citoplasma e membrana celular corados difusa e fracamente (deve apresentar menos de 10% das células coradas com intensidade forte); Escore 2 - coloração citoplasmática granular e da membrana celular de moderada a forte em 10% a 90% das células; Escore 3 - mais de 90% das células coradas com intensidade forte.

A imunohistoquímica foi avaliada de maneira quantitativa contando 100 células em um campo de 200 vezes de aumento, diretamente no microscópio, nos quais os tumores foram considerados positivos ou negativos para os anticorpos analisados. Os resultados foram avaliados pelo programa de estatística da *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 14.0, para *Microsoft Windows*. A única variável paramétrica avaliada foi idade, sendo calculada sua mediana, variação média e desvio padrão.

As variáveis não paramétricas foram avaliadas pela análise de correlação de *Spearman*. O teste de *Kruskal-Wallis* foi aplicado para a avaliação dos graus nuclear e histológico e o teste de *Mann-Whitney* para a variável presença ou não de comedonecrose com o intuito de verificar possíveis diferenças entre os percentuais positivos das categorias delineadas. Também foi utilizado o teste do qui quadrado com o intuito de verificar possíveis diferenças entre os dois grupos etários e os diâmetros tumorais.

RESULTADOS

As pacientes do estudo encontravam-se entre 31 e 85 anos de idade, com média etária de 54,33 anos, desvio padrão de 12,78 anos e idade mediana de 50 anos. Das 45 análises realizadas para avaliação da expressão da aromatase no CDI, observamos positividade em 32 (71%) casos. Quando essa análise foi realizada no CDIS a mesma relação foi observada, obtendo-se uma associação positiva perfeita.

A expressão imunohistoquímica da aromatase nos diversos compartimentos histológicos avaliados foi de 71% positivos (n=32) tanto nos CDI como nos CDIS; 42,5% (n=19) no epitélio normal, 79% (n=36) no estroma tumoral e 15,5% (n=7) no estroma normal. A expressão no epitélio normal mostrou associação positiva estatisticamente significativa ($p < 0,01$) quando comparada com o CDI e CDIS, o mesmo observado com o estroma tumoral ($p < 0,05$). Na análise do estroma normal, notamos que a expressão da aromatase em sete casos não apresentou relação com nenhuma variável analisada para a expressão da aromatase. A presença da aromatase no estroma tumoral mostrou uma associação estatisticamente significativa com a expressão no CDI ($p < 0,001$), CDIS ($p < 0,01$) e epitélio normal ($p < 0,05$).

Também foi feita a análise da expressão da aromatase de acordo com o tamanho do tumor e da expressão da aromatase de acordo com o grupo etário e estes resultados estão demonstrados na Tabela 1. Ao se correlacionar a expressão da aromatase no CDI e CDIS com parâmetros histopatológicos (grau nuclear e presença ou ausência de comedonecrose), assim como tamanho tumoral (maior ou menor que dois centímetros) e idade superior ou inferior a 50 anos, não encontramos diferenças estatisticamente significantes. (Tabelas 2 e 3). Quando se comparou a expressão da enzima aromatase no carcinoma ductal *in situ* com grau nuclear observou-se expressão de 60% no grau nuclear I ($p=0,272$), 60% grau nuclear II ($p=0,010$) e 76% grau nuclear III ($p=0,001$). Na presença de comedonecrose observou-se a expressão da enzima em 74% dos casos ($p=001$) e na ausência de comedonecrose a expressão foi de 61% ($p=0,001$). Já no carcinoma ductal invasivo observou-se expressão de 60% no grau nuclear I ($p=0,272$), 50% grau nuclear II ($p=0,016$) e 86% grau nuclear III ($p=0,006$). Quanto ao grau histológico, a expressão da aromatase foi de 56,5% no grau I ($p=0,178$), 73,5%, no grau II ($p=0,022$) e 60% no grau histológico III ($p=0,272$).

DISCUSSÃO

A expressão da enzima aromatase é relacionada ao câncer de mama e assume cada vez mais uma importância terapêutica nesse agravo oncológico. Apesar de sua relação com a carcinogênese

Tabela 1. Análise da expressão da aromatase de acordo com o tamanho do tumor e da expressão da aromatase de acordo com o grupo etário

Compartimento histológico	Aromatase Tumor < 2cm Número a (%)	Aromatase Tumor > 2cm b Número (%)	P axb	Aromatase Idade < 50 anos c Número (%)	Aromatase Idade > 50 anos Número d (%)	P cxd
CDI						
Positivo	10 (83,5)	22 (55,5)	0,244	12 (70,5)	20 (70)	0,747
Negativo	2 (16,5)	11 (44,5)		5 (29,5)	8 (30)	
CDIS						
Positivo	10 (83,5)	22 (55,5)	0,244	12 (70,5)	20(70)	0,747
Negativo	2 (16,5)	11 (44,5)		5(29,5)	8 (30)	
Epitélio normal						
Positivo	6 (50)	12 (37)	0,408	5 (29,5)	14 (50)	0,169
Negativo	6 (50)	21 (63)		12 (70,5)	14 (50)	
Estroma tumoral						
Positivo	10 (83,5)	26 (77)	0,572	13 (76,5)	23 (80)	0,651
Negativo	2 (16,5)	7 (33)		4 (23,5)	5 (20)	
Estroma normal						
Positivo	2 (18)	5 (15)	=0,687	2 (12,5)	7 (24)	0,321
Negativo	9 (82)	29 (85)		14 (87,5)	22 (76)	

CDI- carcinoma ductal infiltrativo; CDIS - carcinoma ductal in situ (Teste de Qui quadrado corrigido pelo teste exato de Fisher)

Tabela 2. Expressão imunohistoquímica da aromatase nos 45 casos de CDIS em relação ao grau nuclear e presença ou não de comedocarcinoma.

CDIS	Aromatase Número (%)	Valor do p
GNI		
Positivo	3 (60)	=0,272
Negativo	2 (40)	
GNII		
Positivo	9(60)	=0,010*
Negativo	6 (40)	
GNIII		
Positivo	19 (76)	<0,001*
Negativo	6 (24)	
Comedo		
Positivo	20 (74)	=0,001*
Negativo	7 (26)	
n-comedo		
Positivo	11 (61)	=0,001*
Negativo	7 (39)	

(*): Correlação estatisticamente significante (Correlação de Spearman). As diferenças entre os percentuais do GN (teste de Kruskal-Wallis) e comedonecrose (Teste de Mann-Whitney) nas colunas não foram estatisticamente significantes.

Tabela 3. Expressão imunohistoquímica da aromatase nos 45 casos de CDI em relação ao grau nuclear e histológico.

CDI	Aromatase Número (%)	Valor de p
GNI		
Positivo	3 (60)	=0,272
Negativo	2 (40)	
GNII		
Positivo	9 (50)	=0,016*
Negativo	9 (50)	
GNIII		
Positivo	19 (86)	=0,006*
Negativo	3 (14)	
GHI		
Positivo	4 (56,5)	=0,178
Negativo	2 (43,5)	
GHII		
Positivo	25 (73,5)	=0,022*
Negativo	9 (26,5)	
GHIII		
Positivo	3 (60)	=0,272
Negativo	2 (40)	

(*): Correlação estatisticamente significante (Correlação de Spearman). As diferenças entre os percentuais do GN e GH (teste de Kruskal-Wallis) nas colunas não foram estatisticamente significantes

e com a evolução do câncer de mama parecer clara, a maneira como isso acontece ainda não se encontra totalmente elucidada.

Altas e significativas concentrações da enzima no citoplasma das células epiteliais e estromais adjacentes ao tumor mamário primário foram demonstradas por meio da imunohistoquímica, utilizando anticorpos monoclonais antiaromatase em dez dos 19 cânceres mamários estudados; e também foi observado presença do RNA mensageiro da aromatase pela hibridização *in situ* 5.

Alguns estudos constataram a presença da aromatase no câncer de mama, observando-se expressão da aromatase em 72% dos casos avaliados⁶. Números semelhantes foram observados em outros trabalhos que constataram a presença da aromatase em 63% (91 de 145 casos)⁷ e 69% (78 de 113 casos)⁸. O nosso estudo encontrou expressão da aromatase em 71% dos tumores, tanto no componente invasivo como no componente *in situ*. Dados semelhantes foram observados por outros pesquisadores que constataram atividade significativa da aromatase desde 52% até 72% em amostras de carcinoma invasor.^{3-6, 8-10}

Em relação aos estudos endereçados à avaliação da expressão da enzima aromatase no CDIS, parece haver uma discrepância nos estudos da literatura. Análises da expressão da aromatase em 61 casos de CDIS puros constataram taxas maiores em relação aos 101 casos de CDI. E esta discrepância pode ser explicada pelos mecanismos parácrinos, visto que a presença dos dois componentes redundaria numa maior expressão no componente invasor⁷. Entretanto, em nosso estudo essa diferença não foi observada.

Avaliações da expressão da aromatase no carcinoma ductal *in situ* (CDIS) e no carcinoma ductal infiltrativo (CDI) em 162 casos, por análises imunohistoquímica semiquantitativa, encontraram expressão da aromatase tanto nas células tumorais como no estroma adjacente, sendo que a positividade no CDIS foi significativamente maior quando comparada com aquela observada no CDI¹¹.

Por sua vez, a positividade da expressão da aromatase foi notada em um outro estudo em 58 dos 102 casos de câncer de mama estádios clínicos III e IV, por meio do emprego de anticorpos monoclonais. No seguimento, não se observou qualquer relação entre a presença da expressão da aromatase e a resposta ao tratamento hormonal.¹²

Outros investigadores ao estudarem 83 casos de CDI constataram a expressão da aromatase em 47% dos casos, principalmente no componente estromal do tecido tumoral. Não observaram qualquer relação entre a positividade da aromatase com parâmetros clínico-patológicos, como idade, estado menopausal, tamanho do tumor, status linfonodal, tipo histológico e receptores de estrogênio¹³. Em outro estudo,¹⁴ ficou evidente a expressão da enzima aromatase no carcinoma ductal invasivo e carcinoma ductal *in situ* em 70% dos casos, com expressão da mesma no epitélio adjacente em (42,5% dos casos) e 79% no estroma tumoral.

A expressão da aromatase no estroma tumoral ocorreu em 80% dos casos, superior às encontradas no CDI e CDIS. Estes dados coincidem com os da literatura e parecem se relacionar à própria origem da enzima que se encontra muito mais presente no estroma do que no epitélio mamário. Estes resultados demonstram que a síntese estrogênica deve se processar de maneira mais expressiva nos tecidos adjacentes ao tumor, modulando o crescimento tumoral por meio de mecanismos parácrinos, autócrinos e intrácrinos^{15, 16}.

Embora tenhamos observado tendência para maior expressão da aromatase nos casos de CDIS grau nuclear III, com comedonecrose, estes dados não foram estatisticamente significantes e se assemelharam a outro achado descrito na literatura⁷. Uma maior expressão da aromatase já foi evidenciada nos casos onde os CDIs avaliados eram grau nuclear III ($p=0,03$)⁴, símiles aos por nós obtidos na análise dos CDIs ($p=0,05$). Todavia, não observamos os mesmos resultados ante à análise do grau histológico.

Na avaliação da expressão da aromatase de acordo com a idade da paciente (50 anos ou mais e menores de 50 anos), não notamos diferenças estatisticamente significativas em relação à análise no CDI, CDIS e estroma tumoral, diferentemente dos de outros trabalhos que relataram maior expressão nas pacientes com mais de 50 anos ($p=0,012$)⁷. Em relação ao tamanho do tumor, a expressão positiva da aromatase foi porcentualmente maior naqueles menores ou iguais a 2cm (CDI e CDIS), quando comparado com os tumores maiores, porém sem significância estatística ($p=0,224$). Avaliações apenas do CDI não detectaram diferença estatística na expressão da aromatase de acordo com o tamanho do tumor, mas observaram tendência de maior expressão nos tumores menores⁹.

CONCLUSÃO

Nossos resultados revelaram alta correlação entre expressão da aromatase no CDI, CDIS, epitélio normal e estroma tumoral, sugerindo possível mecanismo de ação autócrina e parácrina desta enzima na gênese do câncer de mama. A regulação da atividade da aromatase é extremamente complexa. Os tumores parecem crescer nas áreas em que há uma alta expressão da aromatase, além de serem capazes de se desenvolver estimulando a atividade da aromatase em tecidos adjacentes. Tal fato parece estar relacionado a fatores intrínsecos do tecido mamário, porém ainda não está completamente elucidado¹⁷. Além disso, a superexpressão da aromatase parece relacionar-se a um pior prognóstico do câncer de mama, o que nos faz seguir em busca da via pela qual isso acontece. Os dados do presente estudo poderão contribuir para o avanço do conhecimento do uso dos inibidores da aromatase na terapêutica do câncer de mama.

Conflito de interesse: Não há

SUMMARY

AROMATASE EXPRESSION IN INVASIVE AND IN SITU DUCTAL CARCINOMA PRESENT IN THE SAME BREAST

Objective. to evaluate the expression of aromatase in simultaneously invasive ductal carcinoma (IDC) and ductal carcinoma in situ (DCIS).

METHODS. forty-five surgical samples were obtained from mastectomy and quadrantectomy with simultaneous IDC and DCIS of stage I and II patients. Aromatase was evaluated using antibodies anti-aromatase and the samples classified in accordance with the number and intensity of stained cells.

RESULTS. Aromatase was expressed positively in 32(71%) and negatively in 13(29%) of the cases in the IDC. The same results were obtained in the DCIS showing a perfect positive correlation. In the normal epithelium, aromatase was positive in 19(42.2%) and negative in 26 (57.8%) and a positive

correlation, statistically significant was obtained when compared with IDC and DCIS ($p < 0.01$). Concerning the normal stroma, positivity was only 7 (15.5%) showing no correlation with aromatase expression. Aromatase was positive in 36(80%) of the tumor stroma and this result was statistically significant as in the IDC and DCIS. Comparing results of aromatase expression with nuclear grade, histological grade, tumor size and age no difference was found.

CONCLUSION. our results demonstrated high correlation between aromatase expression in IDC, DCIS, normal epithelium and tumor stroma showing a possible autocrine and paracrine mechanism of this enzyme in breast cancer. [Rev Assoc Med Bras 2009, 55(6): 651 - 5]

KEY WORDS: Aromatase. Breast neoplasms. Ductal carcinoma. In situ carcinoma.

REFERÊNCIAS

- Subramanian A, Salhab M, Mokbel K. Oestrogen producing enzymes and mammary carcinogenesis: a review. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;111:191-202.
- Santner SJ, Pauley RJ, Tait L, Kaseta J, Santen RJ. Aromatase activity and expression in breast cancer and benign breast tissue stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:200-8.
- Díaz-Cruz ES, Shapiro CL, Brueggemeier RW. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:2563-70.
- Ristimäki A, Sivula A, Lundin J. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer. *Cancer Res.* 2002;62:632-35.
- Lu Q, Nakamura J, Savino A, Yue W, Weisz J, Dabbs DJ, et al. Expression of aromatase protein and messenger ribonucleic acid in tumor epithelial cells and evidence of functional significance of locally produced estrogen in human breast cancers. *Endocrinology.* 1996;137:3061-8.
- Miller WR. Aromatase activity in breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1991;39(5B):783-90.
- Silva MC, Rowlands MG, Dowsett M, Gusterson B, McKinna JA, Fryatt I. Intratumoral aromatase as a prognostic factor in human breast carcinoma. *Cancer Res.* 1989;49:2588-91.
- Lipton A, Santen RJ, Santner SJ, Harvey HA, Sanders SI, Matthews YL. Prognostic value of breast cancer aromatase. *Cancer.* 1992;70:1951-55.
- Brodie AM, Lu Q, Long BJ, Fulton A, Chen T, Macpherson N, et al. Aromatase and COX-2 expression in human breast cancers. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2001;79:41-7.
- Shibuya R, Suzuki T, Miki Y, Yoshida K, Moriya T, Ono K, et al. Intratumoral concentration of sex steroids and expression of sex steroid-producing enzymes in ductal carcinoma in situ of human breast. *Endocr Relat Cancer.* 2008;15:113-24.
- Zhang Z, Yamashita H, Toyama T, Hara Y, Omoto Y, Sugiura H, et al. Semi-quantitative immunohistochemical analysis of aromatase expression in ductal carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res Treat.* 2002;74:47-53.
- De Jong PC, Blankenstein MA, Nortier JW, Slee PH, Van De Ven J, Van Gorp JM, et al. The relationship between aromatase in primary breast tumors and response to treatment with aromatase inhibitors in advanced disease. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2003;87:149-55.
- Yamamoto Y, Yamashita J, Toi M, Muta M, Nagai S, Hanai N, et al. immunohistochemical analysis of estrone sulfatase and aromatase in human breast cancer tissue. *Oncology Rep.* 2003;10:791-96.
- Oliveira VM, Piato S, Silva MA. Correlation of cyclooxygenase-2 and aromatase immunohistochemical expression in invasive ductal carcinoma, ductal carcinoma in situ, and adjacent normal epithelium. *Breast Cancer Res Treat.* 2006;95:235-41.
- Talbott KE, Gammon MD, Kibriva MG, Chen Y, Teitelbaum SL, Long CM, et al. A CYP19 (aromatase) polymorphism is associated with increased premenopausal breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat.* 2007;111:481-7.
- Hudelist G, Wülfing P, Kersting C, Burger H, Mattsson B, Czerwenka K, et al. Expression of aromatase and estrogen sulfotransferase in preinvasive and invasive breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2008;134:67-73.
- Cheung KL. Endocrine therapy for breast cancer: an overview. *Breast.* 2007;16:327-43.

Artigo recebido: 13/03/08
 Aceito para publicação: 21/07/09
