

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLÓGICA E MEDICINA LEGAL

Francisca Indira Beltrão Colaço Costa da Matta

**ESTUDO DO IMPACTO PROGNÓSTICO DA MEDIDA DA EXTENSÃO
EXTRACAPSULAR EM LINFONODOS AXILARES METASTÁTICOS DE
PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA: associação com parâmetros clínico-
patológicos e evolução da doença**

BELO HORIZONTE

2017

Francisca Indira Beltrão Colaço Costa da Matta

**ESTUDO DO IMPACTO PROGNÓSTICO DA MEDIDA DA EXTENSÃO
EXTRACAPSULAR EM LINFONODOS AXILARES METASTÁSTICOS DE
PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA: associação com parâmetros clínico-
patológicos e evolução da doença**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Patologia.

Área de concentração: Patologia investigativa

Orientadora: Profa. Dra. Marina De Brot Andrade

BELO HORIZONTE

2017

043

Matta, Francisca Indira Beltrão Colaço Costa da.

Estudo do impacto prognóstico da medida da extensão extracapsular em linfonodos axilares metastáticos de pacientes com câncer de mama: associação com parâmetros clínico-patológicos e evolução da doença [manuscrito] / Francisca Indira Beltrão Colaço Costa da Matta. – 2017.

117 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Marina de Brot Andrade.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Patologia.

1. Patologia. 2. Neoplasias da Mama. 3. Extensão Extranodal. I. Andrade, Marina de Brot. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 616



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

UFMG

FOLHA DE APROVAÇÃO

ESTUDO DO IMPACTO PROGNÓSTICO DA MEDIDA DA EXTENSÃO EXTRACAPSULAR EM LINFONODOS AXILARES METASTÁTICOS DE PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA: ASSOCIAÇÃO COM PARÂMETROS CLÍNICO-PATOLÓGICOS E EVOLUÇÃO DA DOENÇA

FRANCISCA INDIRA BELTRÃO COLAÇO COSTA DA

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em PATOLOGIA, como requisito para obtenção do grau de Mestre em PATOLOGIA, área de concentração PATOLOGIA INVESTIGATIVA.

Aprovada em 24 de fevereiro de 2017, pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Marina De Brot Andrade - Orientador

UFMG

Prof(a). Geovanni Dantas Cassali

UFMG

Prof(a). Helenice Gobbi

UFTM

Belo Horizonte, 24 de fevereiro de 2017.

Ao meu filho, João Pedro, que é minha luz,
minha força, meu equilíbrio e a certeza do
amor de Deus por mim!

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por me fortalecer nos momentos de cansaço e de desânimo; por iluminar meus pensamentos e guiar os meus passos; por me dar a mais linda das missões na terra durante essa trajetória acadêmica: ser mãe!

Ao **João Pedro**, por transformar minha vida, por me mostrar que sou mais forte do que nunca antes imaginei ser, por me alegrar e me fortalecer a cada lindo sorriso, por me amar com seu olhar, por ter me escolhido como sua mãe; por participar desse projeto desde a barriga da mamãe, presente nas revisões de lâminas e de prontuários e nas aulas.

Ao **João Paulo**, pela paciência e pelo incentivo ao longo desses anos; por entender a ausência e a renúncia em alguns momentos; pela parceria e amor; pelo companheirismo nas madrugadas insones; por sempre me mostrar que eu conseguiria; por me fazer sorrir e me mostrar que a vida pode ser leve mesmo em meio ao cansaço; por ser meu incentivador e o amor da minha vida.

À professora **Marina**, por exercer o papel de orientar de fato; por me impulsionar a buscar o melhor; pela paciência e dedicação; pelas tardes e manhãs de revisões de infinitas lâminas; pela disponibilidade sempre; por me ajudar a tornar esse sonho possível. Muito obrigada por tudo!

Aos **meus pais**, por me ensinarem sempre que estudar é o caminho; pelas inúmeras preces; pelas palavras de apoio; por serem exemplos de dedicação aos estudos independente da idade; pelo amor.

Ao **meu irmão Lauro e minha cunhada Lile**, dos quais sou fã pela garra, inteligência, empenho, caráter e brilhantismo; pela amizade, pelo apoio e por servirem de exemplos de força de vontade e abnegação.

Aos **meus pacientes**, por serem meus instrumentos diários de busca de aperfeiçoamento: por vocês e para vocês!

A **Zé**, tia, segunda mãe, minha fada-madrinha, por tanta doçura, tanto amor, tantas preces; por me entender tão bem e por sempre, estar ao meu lado, mesmo quando quilômetros de distância nos separaram.

Aos **meus sobrinhos Mila, Bebelá, Davi, Gui, Mari e Liz** pela alegria de ser tia, por me fazer voltar a ser criança.

Aos **amigos das disciplinas**, pela troca de experiências, de medos, de informações, de carinho.

Ao **professor Ricardo Tavares**, pela paciência em meio às análises iniciais, pela disponibilidade e atenção.

Aos **amigos do Laboratório de Patologia Mamária**, à **professora Helenice Gobbi**, à **professora Cristiana Buzelin**, pela amizade.

Ao **Marcelinho**, ao **Paulo**, aos **acadêmicos**, pela ajuda no projeto.

Aos **meus amigos e família**, pela compreensão e companheirismo.

“Bonito é quando nossos sonhos são tão reais que, em vez de mãos,
nos damos asas.” (LUCCÃO)

RESUMO

Parâmetros anatomopatológicos tradicionais estão entre os principais marcadores prognósticos em pacientes com câncer de mama. Dentre estes, o *status* linfonodal é o mais relevante, sendo representado pela presença de metástases em linfonodos axilares. A presença de extensão extracapsular (EEC) foi recentemente reconhecida como indicador de pior prognóstico em pacientes com câncer de mama linfonodo-positivo, uma vez que a disseminação extracapsular do depósito metastático em LN axilares está associada a aumento das taxas de recidiva locorregional e redução da sobrevida. **Objetivo:** Avaliar o impacto prognóstico da medida da EEC em linfonodos axilares metastáticos de pacientes com câncer de mama. **Materiais e Métodos:** Foram selecionados pacientes com diagnóstico de câncer de mama e metástase axilar submetidos a tratamento cirúrgico no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC/UFMG), no período de 1990 a 2014. Dados clínico-patológicos foram obtidos das requisições de exames anatomopatológicos e a partir de pesquisa de prontuários médicos. Lâminas originais de cada caso selecionado, coradas pelo método de hematoxilina & eosina, foram revistas para avaliação da classificação/graduação histológica, presença e medidas de EEC (maior medida longitudinal da EEC, perpendicular à cápsula linfonodal - PEEC; maior medida transversal da EEC, transversal à cápsula - TEEC; área do maior foco de EEC - AEEC). Análises univariada, multivariada e de sobrevida foram realizadas para avaliar a associação das medidas da EEC com parâmetros clínico-patológicos, sobrevidas global (SG) e livre de doença (SLD). Utilizamos o ponto de corte de 2mm (4mm² para a área de EEC) previamente descrito na literatura, bem como pontos de corte obtidos a partir dos valores das medianas de EEC encontrados nas nossas amostras. **Resultados:** Identificamos 1.238 pacientes diagnosticados com câncer de mama e metástase axilar (632 excluídos; n final=605). A idade mediana foi de 54 anos (28-90 anos), sendo 99% dos pacientes do sexo feminino e 1%, masculino. História familiar positiva para câncer de mama estava presente em 8,1% dos casos. A maioria dos tumores foi classificada como carcinoma ductal invasor sem outra especificação (67,6%), de grau II (42,8%) ou III (42,5%), com grande parte dos pacientes sendo diagnosticados no estágio III da doença (62,1%). Quanto ao *status* axilar, a mediana do número de linfonodos removidos por paciente foi 22 e a mediana de linfonodos axilares positivos para metástase por paciente foi de 15. A mediana das sobrevidas global (SG) e livre de doença (SLD) foi de 40 e 30 meses respectivamente, com 35,5% dos pacientes evoluindo com recidiva da doença. Detectamos EEC em 65% (393/605)

dos pacientes, e sua presença se correlacionou significativamente com piores taxas de SG e SLD. Em relação às medidas da EEC, observamos associação de PEEC/TEEC $\geq 2\text{mm}$ e AECE $\geq 4\text{mm}^2$ à presença de 10 ou mais LN axilares positivos, maior número de focos de EEC na axila, implantes tumorais axilares, recidiva e menor SLD. Os resultados obtidos foram semelhantes quando adotamos as medianas de PEEC, TEEC e AECE como ponto de corte. Avaliamos ainda a presença de implantes tumorais e êmbolos neoplásicos em vasos sanguíneos e linfáticos do tecido adiposo axilar. Identificamos correlação significativa entre a presença de implantes/êmbolos tumorais axilares e grau/tipo histológico, LNs axilares positivos, negatividade para receptores hormonais, estadiamento, recidiva, menor SG e SLD. Na análise multivariada para SG, tamanho tumoral foi estatisticamente significativo, enquanto que na análise multivariada para SLD grau histológico, maior número de focos de EEC e estadiamento apresentaram $p < 0.05$. **Conclusão:** Em pacientes com câncer de mama e metástase axilar, a presença, as medidas e a área da EEC, bem como implantes/êmbolos tumorais axilares, estão associados a características tumorais de comportamento biológico mais agressivo, carga tumoral axilar maior, ocorrência de recidiva e pior sobrevida livre de doença.

Palavras-chave: câncer de mama, linfonodo axilar metastático, extensão extracapsular, medida da extensão extracapsular, implantes tumorais axilares, êmbolos neoplásicos, recorrência, recidiva, sobrevida.

ABSTRACT

Extracapsular extension (ECE) of nodal axillary metastasis is associated with worse outcome in breast cancer (BC) patients, while the size of extracapsular extension in the sentinel lymph node has been correlated with nodal tumor burden at axillary lymph node dissection (ALND). However, the prognostic value of ECE extent remains unclear. Our study analyzed the association of ECE size with clinicopathological criteria and survival in breast cancer (BC). Patients diagnosed with node-positive BC from 1994-2014 were selected at a university hospital. Chart review documented clinicopathological data. Original H&E slides were re-evaluated to determine tumor histologic type/grade, presence, size and area of ECE (largest size perpendicular to the node capsule, PECE; size measured transversely to the capsule, TECE; area, AECE). Comparisons were made by ECE extent ($<2\text{mm}$ versus $\geq 2\text{mm}$) and area. Our database quest identified 1,238 node-positive BC patients, 632 were excluded because of unavailable medical records, leaving 605 for evaluation. ECE was observed in 393 (65%) cases, either in the sentinel and/or non-sentinel nodes. When ECE was present, patients had shorter overall and disease-free survival (DFS; $p<0.01$). Compared to $<2\text{mm}$, PECE $\geq 2\text{mm}$ was significantly associated with pre-menopause, high histologic grade, N3 disease, higher number of ECE foci at ALND, axillary tumor implants and poorer DFS ($p=0.01$); whereas TECE $\geq 2\text{mm}$ and AECE $\geq 4\text{mm}^2$ correlated with N3 disease, a higher number of ECE foci, axillary tumor implants, advanced cancer stage, recurrence (for TECE only) and shorter DFS ($p<0.01$). Results were similar when applying median ECE extent instead of the 2mm cut-off. Also, axillary tumor implants/emboli correlated with worse rates of overall survival and DFS. Our findings confirm that ECE is associated with worse outcome in BC. ECE extent/area, axillary tumor implants and neoplastic emboli correlate with a more aggressive tumor phenotype, nodal tumor burden, recurrence and poorer DFS in node-positive breast cancer patients.

Keywords: Breast cancer; nodal axillary metastasis; extracapsular extension; extracapsular extension size; axillary tumor implants; neoplastic emboli; recurrence; survival

LISTA DE TABELAS, QUADROS, GRÁFICOS E FIGURAS

FIGURA 1 (Materiais e Métodos) Secção histológica de linfonodo axilar, corada pelo método de Hematoxilina & Eosina, contendo metástase de carcinoma mamário invasor com extensão para o tecido adiposo perinodal.....32

FIGURAS E TABELAS DO ARTIGO

Figure 1: Histologic section of a lymph node breast cancer metastasis in the axilla with extracapsular extension (ECE) to the perinodal adipose tissue.....62

Figure 2: Patient selection flow diagram representative of the database search for consecutive cases of breast cancer with axillary lymph node metastasis from 1990 to 2014.....63

Figure 3: Kaplan-Meier curves demonstrating a significant association between the presence of extracapsular extension (ECE) and survival.....64

Figure 4: Survival analysis showing significant associations between the longitudinal perpendicular extent (PECE), transversal extent (TECE) and area (AECE) of extracapsular extension and disease free survival (DFS), but not with overall survival (OS) using Kaplan-Meier survival curves.....65

Figure 5: Kaplan-Meier curves demonstrating a significant correlation between the presence of tumor implants and neoplastic emboli within lymphatic or blood capillaries in the axillary adipose tissue and survival.....66

Table 1: Characteristics of patients, primary tumors and axillary disease burden: clinic and pathologic findings.....67

Table 2: Association of the size and area of ECE with clinicopathologic criteria and outcome.....70

Table 3: Association of the number of foci of extracapsular extension in the ALND specimen, presence of axillary neoplastic emboli, and tumor implants in the axilla with other clinicopathologic variables and outcome.....	73
Table 4 – Multivariate analysis for overall survival (OS) and disease free survival (DFS) using the Cox proportional hazard model.....	77
Supplementary Table 1: Association of the median size and area of ECE with clinicopathologic criteria and outcome.....	82
Supplementary Table 2: Association of the size and area of ECE with clinicopathologic criteria and outcome, after excluding patients who received neoadjuvant therapy.....	86
Supplementary Table 3: Multivariate analysis for disease free survival (DFS) using the Cox proportional hazard model, after excluding patients who received neoadjuvant therapy.....	90
Supplementary Figure 1: Survival analysis showing significant associations between the median value of longitudinal perpendicular extent (PECE), median value of transversal extent (TECE) and median values of area (AECE) of extracapsular extension and disease free survival (DFS), but not with overall survival (OS) using Kaplan-Meier survival curves.....	95
FIGURA 2 (Resultados adicionais) Curvas ROC (<i>Receiver Operator Characteristic</i>) indicando novos pontos de corte em potencial para PEEC, TEEC e AEEC com a maior sensibilidade e especificidade combinadas para prever recidiva do câncer de mama e mortalidade.....	97

LISTA DE ABREVIATURAS

ACOSOG - *American College of Surgeons Oncology Group*

AECE - *Area of extracapsular extension*

AEEC - *Área da extensão extracapsular*

AJCC - *American Joint Commission on Cancer*

ALND - *Axillary lymph node dissection*

CI - *Confidence interval*

CT - *Chemotherapy*

DEPE - *Direção de Ensino e Pesquisa*

DFS - *Disease-free survival*

ECE - *Extracapsular extension*

EEC - *Extravasamento ou extensão extracapsular*

ER - *Estrogen receptor*

HC - *Hospital das Clínicas*

H&E - *Hematoxilina & Eosina; Haematoxylin and Eosin*

HER2 - *Human epidermal growth factor receptor 2; receptor do fator de crescimento epidérmico tipo 2*

HPF - *High power field; campo de grande aumento*

HR - *Hazard ratio*

HT - *Hormone therapy*

IDC-NST - *Invasive ductal carcinoma of no special type*

IHC - *Immunohistochemistry*

IHQ - *Imuno-histoquímica*

LN - *Linfonodo; lymph node*

LPM - *Laboratório de Patologia Mamária*

LRR - *Locoregional recurrence*

LNS - *Linfonodo sentinela*

OS - *Overall survival*

PECE - *Perpendicular size of extracapsular extension*

PEEC - *Medida perpendicular do extravasamento extracapsular*

PR - *Progesterone receptor*

RE - Receptor de estrogênio

ROC - *Receiver Operator Characteristic*

RP - Receptor de progesterona

RT - *Radiation therapy*

SAME - Serviço de Arquivo Médico

SG - Sobrevida global

SLD - Sobrevida livre de doença

SLN - *Sentinel lymph node*

SPSS - *Statistical Package for Social Sciences*

TECE - *Transversal size of extracapsular extension*

TEEC - Medida transversal do extravasamento extracapsular

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO.....	17
1.1 - Câncer de mama: relevância e fatores de risco.....	17
1.2 - Fatores prognósticos em câncer de mama.....	17
1.3 - Extensão extracapsular em linfonodos axilares metastáticos de câncer de mama.....	18
1.4 – Medida da extensão extracapsular em linfonodos axilares metastáticos de câncer de mama: significado clínico e relevância prognóstica.....	20
1.5 - Justificativa.....	22
2 - OBJETIVOS	24
2.1 - Objetivo geral.....	24
2.2 - Objetivos específicos.....	24
3 - MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
3.1 - Casuística.....	26
3.2 - Obtenção dos dados clínicos.....	26
3.3 - Obtenção dos dados anatomopatológicos.....	27
3.4 - Revisão histopatológica.....	28
3.4.1 - Classificação histológica.....	28
3.4.2 - Graduação histológica.....	29
3.5 - Identificação da presença de extravasamento extracapsular e aferição de suas medidas.....	30
3.6 - Avaliação da presença de implantes tumorais e de êmbolos neoplásicos em vasos linfáticos/sanguíneos do tecido adiposo perinodal axilar.....	32
3.7 - Análise estatística.....	32
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4.1 - Resultados em forma de artigo submetido para publicação.....	35
4.2 - Resultados adicionais.....	96
5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	98
6 - CONCLUSÕES	100
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	102

8 - ANEXOS.....	105
------------------------	------------

INTRODUÇÃO

1 - CÂNCER DE MAMA: RELEVÂNCIA E FATORES DE RISCO

O câncer de mama tem grande relevância por sua alta prevalência e elevadas taxas de morbidade e mortalidade. É o 2º tipo de câncer mais frequente em mulheres no Brasil e no mundo e também pode acometer homens, porém é mais raro no sexo masculino (1% do total de casos). Para 2016, a estimativa do Instituto Nacional do Câncer (INCA) foi de 57960 novos casos (INCA, 2016).

A etiopatogênese do câncer de mama é multifatorial: idade, fatores comportamentais ou ambientais, fatores genéticos e hereditários e fatores endócrinos estão envolvidos na carcinogênese mamária (ABDULKAREEM, 2013). Hábitos de vida como sedentarismo, ingestão de álcool e obesidade estão associados ao aumento de risco de desenvolver câncer de mama, bem como história familiar de câncer de mama em parentes de 1º grau antes dos 50 anos de idade. Alguns estudos sugerem que fatores relacionados ao estresse também podem afetar as vias de progressão do câncer, entre elas a imunorregulação, invasão tumoral e angiogênese (YEH & LEE, 2016).

2 - FATORES PROGNÓSTICOS EM CÂNCER DE MAMA

No estudo do câncer, há que se entender o significado de fatores prognósticos e de fatores preditivos. Consideram-se fatores prognósticos em câncer de mama as características clínicas de pacientes e os aspectos patológicos e biológicos dos tumores que permitem prever a evolução clínica da doença ou sobrevida de pacientes no momento do diagnóstico inicial. Um marcador prognóstico deve ser validado tecnicamente, ter significado estatístico comprovado por testes clínicos e influenciar na decisão terapêutica. Por outro lado, os fatores preditivos são as características clínicas, patológicas e biológicas que são utilizadas para estimar a probabilidade de resposta a um tipo de terapia adjuvante (ALLRED *et al*, 1998; GOBBI *et al*, 2008).

Parâmetros anatomopatológicos tradicionais estão entre os principais fatores prognósticos em pacientes com câncer de mama, destacando-se o tamanho do tumor primário, grau e tipo histológicos, comprometimento axilar e invasão angiolinfática peritumoral. O *status* de

expressão de receptor de estrogênio (RE) e de progesterona (RP) e a superexpressão do receptor do fator de crescimento epidérmico tipo 2 (HER2) também são essenciais na avaliação do prognóstico e na determinação da probabilidade de resposta terapêutica nestas pacientes (ALLRED *et al.*, 1998; GOBBI, *et al.*, 2008; GOLDBIRSCHE *et al.*, 2005).

O estudo histopatológico do tumor mamário primário com coloração de rotina (hematoxilina-eosina) é o método de avaliação mais utilizado no câncer de mama e as informações obtidas através do exame anatomopatológico são essenciais na determinação do prognóstico de pacientes, com utilidade clínica já comprovada (FITZGIBBONS *et al.*, 2000).

Há consenso na literatura de que o *status* axilar, ou seja, a presença ou ausência de metástases em linfonodos axilares é o principal fator prognóstico em pacientes com câncer de mama (FITZGIBBONS *et al.*, 2000; CIANFROCCA *et al.*, 2004; GOLDBIRSCHE *et al.*, 2013; ESPOSITO *et al.*, 2015;). Estudos prévios já validados também estabeleceram que quanto maior o número de linfonodos axilares metastáticos pior é o prognóstico da doença, observando-se redução das sobrevidas global e livre de doença inversamente proporcional ao número de linfonodos axilares positivos (WALLGREN. *et al.*, 2003; GRUBER *et al.*, 2008). Por tais motivos, o comprometimento axilar é componente importante no estadiamento da doença, na determinação do prognóstico e definição do tratamento do câncer de mama (LYU *et al.*, 2017).

3 - EXTENSÃO EXTRACAPSULAR EM LINFONODOS AXILARES METASTÁTICOS DE CÂNCER DE MAMA

Além do exame dos linfonodos axilares, a presença de extensão extracapsular (EEC) também deve constar no laudo anatomopatológico. Define-se como extensão ou extravasamento extracapsular a disseminação extranodal do depósito metastático, através da cápsula linfonodal, em linfonodos axilares comprometidos pelo tumor. Estudos prévios demonstraram que a presença de extravasamento extracapsular no linfonodo sentinela de pacientes com câncer de mama está associada a maior número de linfonodos não-sentinela positivos no esvaziamento axilar complementar. Ademais, trabalhos anteriores identificaram correlação com o aumento das taxas de recidiva locorregional e redução das taxas de sobrevida (ALTINYOLLAR *et al.*, 2007; GRUBER *et al.*, 2008; FUJII, 2010).

Um estudo publicado por GIULIANO (2000) e colegas comparou as características do tumor primário e dos linfonodos sentinela e não-sentinela em 194 mulheres submetidas a tratamento cirúrgico para câncer de mama (carcinoma invasor), concluindo que a presença de EEC em

linfonodo sentinela (LNS) metastático está fortemente associada à presença de metástases em linfonodos não-sentinelas (TURNER *et al.*, 2000).

Em 2001, ABDESSALAM (2001) e colaboradores concluíram que, em pacientes com linfonodo sentinela metastático, a invasão angiolinfática, a presença de EEC e o tamanho da metástase axilar são fatores que aumentam a frequência de linfonodos não-sentinela positivos, ao avaliar 100 pacientes com câncer de mama submetidas à biópsia de linfonodo sentinela (ABDESSALAM *et al.*, 2001). No mesmo ano, o estudo de Susan Pendlebury e colegas concluiu que as taxas de sobrevida global, sobrevida livre de doença e sobrevida específica são piores em pacientes com EEC ao avaliar 311 pacientes com linfonodos axilares comprometidos (71 pacientes com linfonodos axilares positivos com EEC *versus* 240 pacientes com linfonodos axilares positivos sem EEC) (BUCCI *et al.*, 2001). Porém, neste estudo a presença de EEC não teve efeito sobre as taxas de sobrevida global dos pacientes.

Já em 2007, pesquisadores liderados por Fikret Irkin publicaram um estudo que incluiu 650 mulheres tratadas para câncer de mama no *Ankara Oncology Teaching and Research Hospital* entre 1996 e 2003. Neste estudo, a amostra foi dividida em dois grupos: presença de invasão capsular e do tecido adiposo perinodal *versus* ausência destas características anatomopatológicas. Os autores concluíram que a taxa de sobrevida global em cinco anos foi inferior no grupo de pacientes cujos linfonodos axilares metastáticos apresentavam invasão capsular e do tecido adiposo perinodal (74,8% *versus* 82,3%) (ALTINYOLLAR *et al.*, 2007). Como descrito anteriormente, a maioria dos estudos abordou apenas se a presença de extensão extracapsular em linfonodos sentinelas metastáticos de pacientes com câncer de mama seria um fator preditivo de metástases adicionais em linfonodos não-sentinela (FUJII *et al.*, 2010) para indicação subsequente de esvaziamento axilar e/ou radioterapia (GENG *et al.*, 2013).

Mais recentemente, em 2016, buscando entender o papel prognóstico da presença de EEC em linfonodos sentinela metastáticos de câncer de mama, NOTTEGAR (2016) e colegas realizaram uma revisão sistemática e meta-análise de todos os estudos que incluíram os indicadores prognósticos mais importantes: sobrevida global (SG) e sobrevida livre de doença (SLD) em pacientes com EEC no LNS *versus* pacientes sem EEC no LNS. Após rastreamento da literatura, foram encontrados 172 artigos sobre o tema, porém 160 foram excluídos com base no título e resumo da publicação e apenas 12 foram selecionados para revisão completa. Entre estes 12, 5 artigos preencheram os critérios de inclusão, sendo então elegíveis para o estudo. Desta forma, a meta-análise envolveu um total de 624 pacientes com LNS positivo para câncer de mama (163 casos com EEC e 461 casos sem EEC), com mediana de seguimento clínico de 58 meses. Todos os trabalhos, com exceção de um, definiram como

extensão extracapsular a presença de invasão da cápsula do linfonodo em sua espessura total ou extravasamento das células tumorais para o tecido adiposo perinodal. Este grupo sugere que seja adotada uma definição universal para a extensão extracapsular: ruptura estrutural da cápsula linfonodal pela metástase, demonstrada histologicamente. Apesar de também serem indicadores de mau prognóstico, êmbolos neoplásicos e células tumorais livres no tecido adiposo perinodal não devem ser considerados como EEC verdadeira. Os resultados desta meta-análise confirmaram a associação da EEC com maior risco de mortalidade e de recidiva do câncer de mama. Entretanto, uma das limitações deste trabalho foi representada pela escassez de estudos prévios que trouxeram informações acerca de parâmetros clínico-patológicos, tais como tamanho tumoral, *status* linfonodal, grau histológico e outros, e, principalmente, que tenham feito análise multivariada (NOTTEGAR, *et al.*, 2016).

4 - MEDIDA DA EXTENSÃO EXTRACAPSULAR EM LINFONODOS AXILARES METASTÁTICOS DE CÂNCER DE MAMA: SIGNIFICADO CLÍNICO E RELEVÂNCIA PROGNÓSTICA

Como descrito anteriormente, a maioria dos estudos abordou somente se a presença de extensão extracapsular em linfonodos sentinelas metastáticos de pacientes com câncer de mama seria um fator preditivo de metástases adicionais em linfonodos não-sentinelas (FUJII *et al.*, 2010). Apenas quatro estudos avaliaram o significado e a relevância da medida da EEC nas metástases em linfonodos axilares, sendo que o mais recente deles foi publicado em setembro de 2015.

O primeiro estudo que descreveu a medida do extravasamento extracapsular como possível fator prognóstico foi de autoria de um grupo de pesquisadores do *MD Anderson Cancer Center*, em Houston, Estados Unidos da América (EUA). Buscando determinar a taxa de recidiva locorregional em pacientes submetidas à mastectomia e quimioterapia adjuvante com doxorrubicina no período de 1975 a 1994 e estabelecer quais pacientes se beneficiariam da radioterapia adjuvante, esse estudo avaliou e aferiu a extensão extracapsular em linfonodos axilares com metástases, entre outras características do tumor, em uma análise multivariada. Nesse estudo prospectivo, a extensão extranodal foi classificada em focal (≤ 2 milímetros - mm), extensa (> 2 mm), presente sem outra especificação, ou ausente, concluindo-se que a extensão extranodal ≥ 2 mm seria fator preditor para a presença de recorrência locorregional. Extensão extracapsular < 2 mm, por outro lado, foi associada a um risco pequeno de recidiva locorregional (KATZ *et al.*, 2000).

Em 2001, um estudo realizado no *University Medical Centre St. Radboud*, Nijmegen, Países Baixos, avaliou pacientes tratadas cirurgicamente (mastectomia radical modificada ou cirurgia conservadora) para câncer de mama entre 1991 e 1996. Este estudo analisou retrospectivamente se as características histológicas dos linfonodos axilares teriam valor preditivo para o número de linfonodos axilares comprometidos no esvaziamento axilar. A EEC foi estratificada inicialmente em ausente ou presente; posteriormente, quando presente, a EEC foi classificada em extensão extranodal mínima ($\leq 1\text{mm}$) ou ampla ($>1\text{mm}$). Concluiu-se que extensão extracapsular maior que 1 milímetro (mm) está associada a um maior número de linfonodos axilares metastáticos (≥ 4 linfonodos positivos) na linfadenectomia axilar (PALAMBA, *et al.*, 2001).

Recentemente, em 2014, um estudo do grupo do *Memorial Sloan-Kettering Cancer Center*, Nova Iorque, EUA, avaliou a presença e dimensão da extensão extracapsular em amostra semelhante à do estudo Z0011 (*The American College of Surgeons Oncology Group Z0011 trial*), ou seja, pacientes com tumores primários menores que 2 centímetros (cm) de diâmetro (estágio T1) e de 2 cm a 5 cm de diâmetro (estágio T2) submetidas à biópsia de linfonodo sentinela (GIULIANO *et al.*, 2011). As pacientes foram agrupadas de acordo com a ausência ou presença de EEC em metástases no linfonodo sentinela, e de acordo com a medida da EEC, quando presente (arbitrariamente definida por medida menor ou igual a dois milímetros – $\leq 2\text{mm}$ – versus medida maior que dois milímetros – $>2\text{mm}$). Subsequentemente, a relação entre tal medida, presença de linfonodos axilares não-sentinela com metástases e outros parâmetros foi analisada. Concluíram então que houve associação significativa da presença de EEC com a idade, tamanho tumoral, multifocalidade do tumor primário, presença de invasão angiolinfática e número de linfonodos sentinela positivos. A medida da EEC $\leq 2\text{mm}$ foi associada a menor tamanho do tumor primário, menor número de linfonodos sentinela positivos e menor número de linfonodos axilares positivos no esvaziamento axilar; a medida da EEC $>2\text{mm}$, por outro lado, foi associada com maior número de linfonodos axilares comprometidos no esvaziamento axilar, especificamente ≥ 4 linfonodos positivos. Tais achados apontam para a possibilidade de que, em amostra semelhante à do estudo Z0011, a presença de EEC maior que 2mm seria indicação de esvaziamento axilar complementar ou de irradiação da cadeia linfática regional (GOOCH *et al.*, 2014).

Outro trabalho mais recente, publicado em 2015, avaliou o valor prognóstico da medida da extensão extracapsular em pacientes com câncer de mama. CHOI (2015) e colaboradores estudaram retrospectivamente 208 pacientes com tumores de até 5cm e até 2 linfonodos

axilares positivos para câncer de mama, que haviam sido submetidos a tratamento no período de 1 de janeiro de 2000 a 31 de dezembro de 2012 no *Loma Linda University Medical Center*, Loma Linda, Califórnia, EUA. As lâminas coradas pelo método de Hematoxilina & Eosina, referentes a cada caso, foram revistas para identificação da presença de extensão extracapsular (EEC). Quando presente, a EEC foi medida em seu foco mais amplo e categorizada em $\leq 2\text{mm}$ ou $>2\text{mm}$. A justificativa dos autores para adoção deste ponto de corte é de que, como não existe padronização para a mensuração da EEC, foi usado o mesmo valor de 2mm que distingue micrometástase de macrometástase. O estudo concluiu que a presença de EEC no linfonodo sentinela está associada à doença N2, ou seja, presença no esvaziamento axilar complementar de 4 a 9 linfonodos não-sentinela positivos. Além disso, pacientes com EEC $\geq 2\text{mm}$ apresentaram piores taxas de sobrevida global (CHOI *et al*, 2015).

5 - JUSTIFICATIVA

Considerando-se a relevância do *status* axilar e da presença de extensão extracapsular como fatores prognósticos em pacientes com câncer de mama, além da escassez de dados na literatura em relação à importância prognóstica da medida da extensão extracapsular em linfonodos axilares positivos para metástases, fica evidente a necessidade de novos trabalhos que abordem tais aspectos. Trabalhos prévios avaliando a medida da EEC não especificaram como tal medida foi aferida, ou seja, não se encontra na descrição dos métodos se a dimensão da EEC foi obtida medindo-se o maior foco de EEC perpendicular à cápsula linfonodal ou se medidas transversais à cápsula também foram consideradas. Portanto, ainda não foi estabelecido se o método de mensuração da dimensão da EEC poderia afetar o significado clínico e prognóstico deste parâmetro. Além disso, os estudos anteriores empregaram pontos de corte arbitrário para avaliar os diferentes grupos de pacientes com metástase axilar e EEC, sendo que alguns autores utilizaram o valor de referência de 1mm enquanto outros (a maioria) empregaram o ponto de corte de 2mm. Como são valores adotados de forma arbitrária, não há evidências científicas suficientes de que o ponto de corte mais adequado para avaliar a medida de EEC e identificar os pacientes com evolução clínica desfavorável seria mesmo o valor de 2mm, ou se haveria outros pontos de corte a partir dos quais o prognóstico dos pacientes tornar-se-ia pior. Considerando-se que êmbolos neoplásicos e células neoplásicas livres no tecido adiposo perinodal não podem ser referidos como EEC verdadeira, nós decidimos expandir nossa investigação acerca da carga tumoral axilar e examinamos a associação da

presença de implantes tumorais e êmbolos neoplásicos em vasos linfáticos e/ou sanguíneos do tecido adiposo perinodal com parâmetros clínico-patológicos e sobrevida.

OBJETIVOS

1 - OBJETIVO GERAL

Avaliar o impacto prognóstico da medida da extensão extracapsular em linfonodos axilares metastáticos de pacientes com câncer de mama.

2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 2.1 - Examinar a presença de extensão extracapsular em linfonodos axilares com metástases e avaliar a sua associação com a sobrevida global e sobrevida livre de doença nos pacientes diagnosticados com câncer de mama linfonodo-positivo.
- 2.2 - Determinar, em cada caso selecionado, a maior medida (medida perpendicular ou longitudinal e medida transversal), a maior área e o número total de focos de extensão extracapsular em linfonodos axilares metastáticos de pacientes com câncer de mama.
- 2.3 - Examinar a associação entre as medidas (perpendicular, transversal e área) da extensão extracapsular em linfonodos axilares metastáticos com dados clínicos, parâmetros anatomopatológicos, presença de recidiva locorregional, recidiva à distância, sobrevida global e sobrevida livre de doença.
- 2.4 - Avaliar a associação do número de focos de extensão extracapsular na axila com dados clínicos, parâmetros anatomopatológicos e presença de recidiva (locorregional e à distância).
- 2.5 - Identificar a presença de êmbolos neoplásicos em vasos sanguíneos/linfáticos e de implantes tumorais no tecido adiposo axilar perinodal de pacientes com câncer de mama.
- 2.6 - Verificar a associação entre a presença de êmbolos neoplásicos e de implantes tumorais no tecido adiposo axilar perinodal com parâmetros clínico-patológicos, presença de recidiva locorregional, recidiva à distância, sobrevida global e sobrevida livre de doença.
- 2.7 - Analisar a associação da presença e medida perpendicular/longitudinal da extensão extracapsular em linfonodos sentinela metastáticos para câncer de mama com o

número de linfonodos não-sentinela positivos no espécime de linfadenectomia axilar complementar (esvaziamento axilar).

- 2.8 - Calcular se haveria um novo ponto de corte das medidas (perpendicular, transversal e área) da extensão extracapsular, a partir do qual o prognóstico dos pacientes tornar-se-ia pior.

MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto de pesquisa que originou este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), parecer número 975.297, CAAE 39736714.9.0000.5149 (Anexo 2.2), e sua execução foi autorizada pela Direção de Ensino e Pesquisa (DEPE) do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC/UFMG).

1 - CASUÍSTICA

No presente estudo, foram incluídos os pacientes com diagnóstico de câncer de mama e metástase linfonodal axilar, submetidos a tratamento cirúrgico (mastectomia; quadrantectomia; setorectomia ou tumorectomia) com abordagem axilar (linfonodo sentinela ou esvaziamento axilar) no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais e acompanhados no Ambulatório de Mastologia do HC/UFMG, no período de janeiro de 1990 a dezembro de 2014. Os casos foram selecionados a partir de arquivos médicos do Laboratório de Patologia Mamária (LPM) do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG. Tais arquivos contêm informações sobre os resultados dos exames anatomopatológicos de pacientes com câncer de mama tratados no HC/UFMG. Foi realizada também pesquisa em prontuários médicos arquivados no Serviço de Arquivo Médico (SAME) do HC/UFMG para coleta de dados clínicos dos pacientes.

Nossos critérios de exclusão foram compreendidos por: pacientes cujos prontuários não continham informações necessárias ao nosso estudo; pacientes cujos prontuários não foram localizados ou estavam inativos; casos para os quais lâminas e/ou blocos de parafina dos tumores primários e metástases axilares não estavam disponíveis para revisão histopatológica e aferição da medida da extensão extracapsular.

2 - OBTENÇÃO DOS DADOS CLÍNICOS

Os dados clínicos foram obtidos retrospectivamente a partir das requisições de exames histopatológicos arquivadas no Laboratório de Patologia Mamária da Faculdade de Medicina da UFMG e através de pesquisa nos prontuários médicos dos pacientes, arquivados no SAME

do HC/UFMG. Em suma, foram coletadas informações acerca dos seguintes dados: ano da biópsia; data do diagnóstico inicial e da última consulta e/ou óbito; idade ao diagnóstico inicial; cor da pele (branca, negra, parda ou amarela); sexo, período reprodutivo (pré ou pós-menopausa); história familiar para câncer de mama; localização do tumor (lateralidade e quadrante acometido); tratamentos adjuvantes ou neoadjuvantes (hormonioterapia, quimioterapia, radioterapia, imunoterapia); presença de recidivas e de metástases à distância (data e local); tempo de seguimento clínico; tamanho do tumor; *status* linfonodal axilar; estadiamento anatomopatológico; *status* de expressão de receptores hormonais (receptor de estrogênio, RE, e de progesterona, RP) e do receptor do fator de crescimento epidérmico tipo 2 (HER2).

3 - OBTENÇÃO DOS DADOS ANATOMOPATOLÓGICOS

Parâmetros anatomopatológicos foram obtidos a partir dos laudos anatomopatológicos e/ou relatórios prévios arquivados no LPM, sendo coletados: nome da paciente, registro, idade, ano da biópsia, lateralidade do tumor, tamanho do tumor primário, tipo histológico, grau histológico, *status* linfonodal axilar, presença de infiltração de cápsula linfonodal e estadiamento anatomopatológico.

A classificação do tumor com relação ao tamanho e ao *status* axilar será realizada tendo como base o sistema TNM anatomopatológico da *American Joint Commission on Cancer (AJCC)*, considerando-se as informações descritas no laudo original, onde:

pTx – dado sobre tamanho do tumor não disponível;

pT0 – sem evidência de tumor;

pT1 – tumor menor ou igual a 2cm;

pT2 – tumor maior que 2 e menor ou igual a 5cm;

pT3 – tumor maior que 5cm.

pT4 – tumor que invade parede torácica e/ou pele

pNx – linfonodos regionais não avaliados ou dado não disponível

pN0 – ausência de metástases

pN1 – metástases em 1 a 3 linfonodos axilares e/ou nos linfonodos da cadeia mamária interna pela biópsia de linfonodo sentinela, mas não detectável clinicamente.

pN2 – metástases em 4 a 9 linfonodos ou em linfonodos da cadeia mamária interna clinicamente aparente, na ausência de metástase axilar.

pN3 – metástases em 10 ou mais linfonodos axilares, ou linfonodos infraclaviculares (nível III

axilar), ou em linfonodos supraclaviculares ipsilaterais

De acordo com as combinações possíveis entre T, N e M, é obtida uma divisão em estágios: 0, I, II, III e IV, onde 0 refere-se ao paciente com câncer de mama *in situ* e IV ao paciente com câncer de mama com metástase à distância.

4 - REVISÃO HISTOPATOLÓGICA

As lâminas originais coradas pelo método de hematoxilina & eosina (HE), referentes aos casos selecionados (pacientes com linfonodos axilares metastáticos para câncer de mama) foram desarquivadas a partir dos arquivos do LPM e revistas pelo mesmo patologista (MDBA – pesquisador principal e orientador).

A revisão histológica incluiu a reavaliação do tipo e grau histológicos dos tumores primários e avaliação de todos os linfonodos axilares para identificação da presença de extravasamento extracapsular (EEC) e aferimento de suas medidas, quando presente.

4.1 - CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA

Para a classificação dos tumores primários da mama quanto ao tipo histológico, empregamos as recomendações de PAGE *et al.* (1998), adotadas pelo Colégio Americano de Patologistas (FITZGIBBONS *et al.*, 2000) e a mais recente Classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS) para tumores da mama (LAKHANI *et al.*, 2012). Brevemente, os carcinomas mamários invasores foram classificados em carcinoma ductal invasor sem outra especificação (SOE) ou de tipo não especial, carcinoma de tipo especial puro e carcinoma de tipo misto ou variante. Se o carcinoma invasor não apresentar nenhuma característica histológica específica em mais de 50% da massa tumoral, ele é classificado como carcinoma ductal invasor sem outra especificação (CDI-SOE). Para ser referido como tipo especial puro, o carcinoma mamário invasor deve exibir características especiais em mais de 90% do tumor. Por outro lado, se o padrão ductal SOE estiver presente em 10% a 40% da massa tumoral, mas o carcinoma apresentar características específicas no restante do tumor, ele é categorizado como do tipo misto ou variante, discriminando-se os tipos especiais associados.

Para a classificação dos tipos especiais de carcinomas mamários invasores, critérios rígidos foram adotados com definições próprias para cada tipo, como preconizado por ELSTON & ELLIS (1998), PAGE & ANDERSON (1987) e pela classificação mais recente da OMS.

4.2 - GRADUAÇÃO HISTOLÓGICA

Para a avaliação do grau histológico, utilizamos o Sistema de Nottingham (ELSTON e ELLIS, 1998; ELSTON e ELLIS, 2006) adaptado por Elston & Ellis a partir da modificação da classificação de BLOOM & RICHARDSON (1957), onde o carcinoma mamário invasor é classificado como bem diferenciado (baixo grau ou grau I), moderadamente diferenciado (grau intermediário ou grau II) ou pouco diferenciado (alto grau ou grau III). Estas categorias são avaliadas através de pontos atribuídos a três fatores (formação tubular, pleomorfismo nuclear e contagem mitótica), os quais geram valores de 1 a 3 que, somados, resultam em uma pontuação final de 3 a 9.

A formação tubular é examinada segundo critérios objetivos, sendo considerados túbulos somente as estruturas com lúmen central bem definido. Quando mais de 75% do tumor examinado é composto por túbulos, considera-se o escore 1; escore 2 é atribuído a tumores com formação tubular de 10% a 75%; e escore 3 quando há menos de 10% de formação glandular.

Em relação ao pleomorfismo nuclear, os valores também variam de 1 a 3 (1 para baixo grau de pleomorfismo nuclear e 3 para alto grau). Com o intuito de reduzir a subjetividade, as células neoplásicas são comparadas com as células epiteliais normais do parênquima mamário adjacente ao tumor. Na ausência de epitélio normal, a comparação é feita com linfócitos. Quando as células neoplásicas são pequenas e regulares, com núcleos uniformes e nucléolos inconspícuos, considera-se como baixo o grau de pleomorfismo nuclear. Em contraposição, o alto grau é caracterizado pela presença de grande variação no tamanho e forma dos núcleos, cromatina grosseira ou irregular, e nucléolos evidentes ou proeminentes.

Na avaliação do índice mitótico, a dimensão do campo microscópico é fundamental. A contagem de figuras de mitose é efetuada na periferia do tumor, escolhendo-se a área de maior atividade proliferativa da neoplasia (“área quente” ou “hot spot”), sendo examinados 10 campos microscópicos consecutivos de grande aumento (objetiva de 40x).

Devido a variações na dimensão do campo de grande aumento, seu diâmetro deve ser determinado para cada microscópio utilizado durante a graduação histológica, e o ponto de corte apropriado poderá ser definido adequadamente. Para um campo de grande aumento de 0,40 mm (área de 0,125 mm²), atribui-se o valor 1 quando até 4 mitoses são encontradas em 10 campos de grande aumento (HPF), valor 2 entre 5 e 9 mitoses por 10 HPF e valor 3 se há mais de 10 mitoses por 10 HPF.

Após a avaliação individual de cada parâmetro, os valores atribuídos a cada item são somados, obtendo-se um escore final de 3 a 9. O tumor é classificado como grau I quando a soma dos valores é de 3, 4 e 5; grau II, com os valores 6 e 7; e grau III, se a soma final for 8 ou 9 (ELSTON e ELLIS, 1998; ELSTON e ELLIS, 2006).

5 - IDENTIFICAÇÃO DA PRESENÇA DE EXTRAVASAMENTO EXTRACAPSULAR E AFERIÇÃO DE SUAS MEDIDAS

Para a avaliação da presença e tamanho de extensão extracapsular em linfonodos axilares com metástases de câncer de mama, todas as lâminas originais de linfonodos metastáticos referentes a cada caso, coradas pelo método de HE, foram desarquivadas e revistas. Inicialmente, foram identificados os casos com presença de EEC. A aferição da dimensão da EEC foi realizada através de régua milimetrada acoplada à lente ocular do microscópio. Cada foco de EEC foi aferido através da medida (em milímetros) em duas dimensões (FIGURA 1): medida longitudinal da EEC, perpendicular à cápsula linfonodal – PEEC; medida transversal da EEC, transversal à cápsula – TEEC. A partir desses valores, foi calculada a área de EEC (AEEC), sendo considerado para o cálculo apenas o foco com as maiores medidas de EEC.

A EEC foi considerada como presente, mas de medida indeterminada, quando não foi possível realizar a mensuração em decorrência de alterações na morfologia da cápsula linfonodal ou do linfonodo, ou seja, quando não conseguimos visualizar adequadamente a cápsula linfonodal ou arquitetura do linfonodo. As medidas e área foram obtidas tanto nos linfonodos sentinela (quando a biópsia havia sido realizada) como nos linfonodos não-sentinela do esvaziamento axilar.

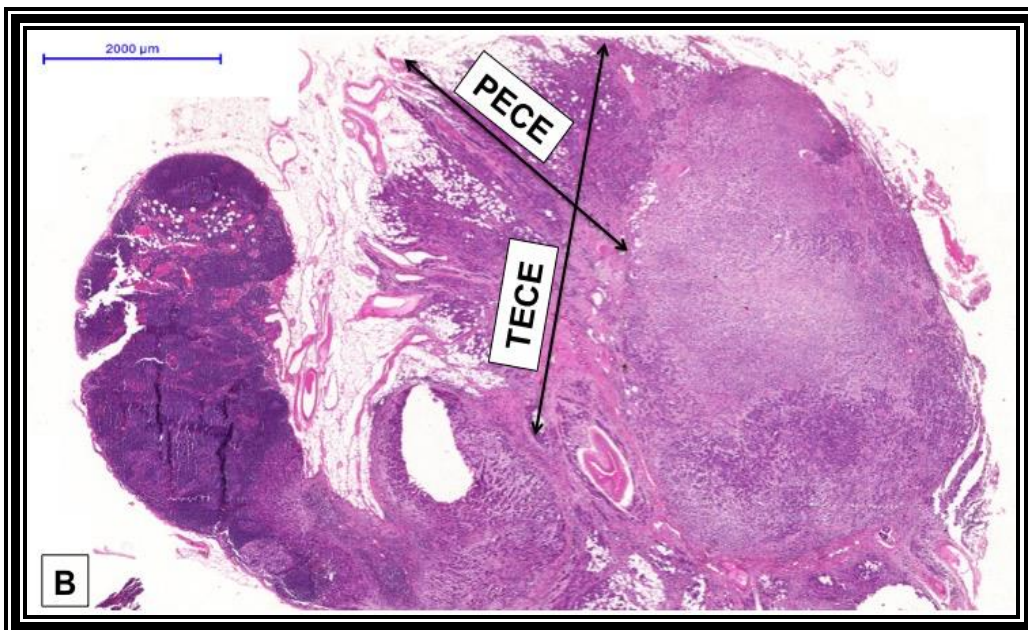
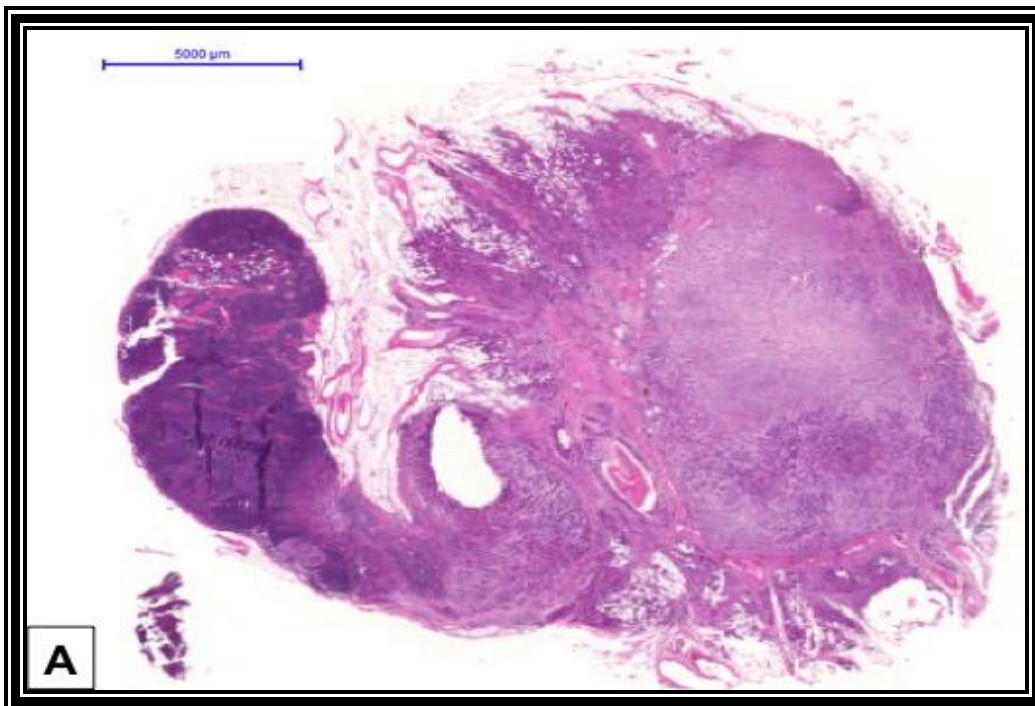
Em cada espécime de biópsia de linfonodo sentinela e/ou esvaziamento axilar, todos os focos de extensão extracapsular foram medidos, considerando-se apenas a maior medida (a maior medida longitudinal e a medida transversal do mesmo foco) e a maior área para fins de análise estatística. As análises de associação subsequentes foram realizadas separadamente, comparando-se a maior medida perpendicular/longitudinal de EEC, a maior medida transversal e área do mesmo foco de EEC com variáveis clínico-patológicas e evolução.

Cada linfonodo axilar com depósito metastático e extensão extracapsular foi considerado como um foco de EEC. O número total de focos de extensão extracapsular também foi considerado como uma variável para análise.

FIGURA 1 – Secção histológica de linfonodo axilar, corada pelo método de Hematoxilina & Eosina, contendo metástase de carcinoma mamário invasor com extensão para o tecido adiposo perinodal

(A) Linfonodo axilar metastático de câncer de mama com extensão extracapsular para o tecido adiposo perinodal, aumento de 10x

(B) Linfonodo axilar metastático de câncer de mama, onde notam-se as medidas perpendicular/longitudinal e transversal da extensão extracapsular, aumento de 20x. Medida perpendicular à cápsula linfonodal – PEEC; medida transversal da EEC, transversal à cápsula – TEEC



6 - AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE IMPLANTES TUMORAIS E DE ÊMBOLOS NEOPLÁSICOS EM VASOS LINFÁTICOS/SANGUÍNEOS DO TECIDO ADIPOSEO PERINODAL AXILAR

Na gordura axilar, também foram examinadas a presença ou ausência de implantes tumorais e de êmbolos neoplásicos em vasos sanguíneos/linfáticos do tecido adiposo perinodal.

Definimos como implante tumoral a presença de depósitos tumorais na axila, sem reconhecimento da arquitetura linfonodal ou da cápsula do linfonodo.

Consideramos como êmbolo neoplásico axilar a presença de células tumorais no interior de vasos sanguíneos e/ou linfáticos da gordura axilar perinodal.

7 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as informações do trabalho foram armazenadas em uma planilha Excel (Microsoft®), elaborada para este estudo. Após a coleta, os dados foram analisados através do programa *Statistical Package for Social Sciences v.17.0 (SPSS Institute, Chicago, IL, EUA)* e do programa R v.3.2.1.

Análise univariada foi realizada para avaliar a associação das medidas de EEC (PEEC, TEEC, AEEC) em linfonodos axilares positivos para metástases com outros parâmetros clínicos e anatomopatológicos, recidiva local e recidiva à distância, sendo empregado o teste de qui-quadrado.

Para as medidas longitudinal/perpendicular e transversal da extensão extracapsular (PEEC e TEEC), utilizamos tanto o ponto de corte de 2mm previamente descrito na literatura, quanto o valor das medianas das medidas encontradas em nossa amostra, com o objetivo de averiguar se o emprego da mediana como ponto de corte seria mais acurado que o valor de 2mm para identificar pacientes de pior prognóstico e menor sobrevida. Com relação à área de EEC (AEEC), adotamos o ponto de corte de 4mm^2 ($\text{AEEC} = 2\text{mm} \times 2\text{mm} = 4\text{mm}^2$), além de usarmos os valores das medianas de AEEC encontradas em nossas amostras.

Examinamos ainda a correlação entre a presença de êmbolos neoplásicos e implantes tumorais no tecido adiposo axilar com outras características clínico-patológicas, através do teste de qui-quadrado.

Para verificar a associação das diferentes variáveis com a sobrevida dos pacientes (sobrevida global e sobrevida livre de doença) foi empregado o método de Kaplan-Meier. As curvas de sobrevida foram construídas e comparadas através do teste de Log-rank. Um valor de $p < 0.05$

foi considerado significativo. Sobrevida livre de doença foi definida como o tempo decorrido em meses entre a data do diagnóstico inicial de câncer de mama e a data da recidiva locorregional ou à distância.

Análise multivariada com regressão de Cox para sobrevida global e sobrevida livre de doença foi realizada, com ajuste para todas as variáveis estudadas, a fim de determinar o valor prognóstico independente da PEEC, TEEC, AEEC, êmbolos neoplásicos e implantes tumorais axilares. As variáveis que obtiveram valor de $p < 0,10$ na regressão de Cox univariada foram selecionadas para a análise multivariada.

Um valor de $p < 0.05$ foi considerado significativo em todas as análises.

Finalmente, para determinar se haveria novos pontos de corte para PEEC, TEEC e AEEC que poderiam melhor prever a recorrência do câncer ou a morte, foram geradas curvas *Receiver Operator Characteristic* (ROC). A área sob a curva foi testada para verificar se as medidas perpendicular/longitudinal, transversal e área do extravasamento extracapsular poderiam ser consideradas como bons preditores de recorrência da doença e mortalidade. Se a área sob a curva for significativa, as estatísticas de Youden (J) são calculadas para cada ponto, e o ponto com a estatística de Youden mais elevada é considerado o melhor ponto de corte (ou seja, o valor de referência com as maiores sensibilidade e especificidade).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maior parte dos resultados obtidos e a discussão dos mesmos serão apresentadas sob a forma alternativa de artigo científico submetido a periódico internacional indexado. A estrutura e formatação do artigo seguem as normas do periódico ao qual foi submetido (*Modern Pathology*).

Os resultados adicionais que não foram incluídos no artigo serão apresentados em seguida, bem como as considerações finais, conclusões gerais que atendem aos objetivos propostos, lista de referências bibliográficas e anexos.

1 - RESULTADOS EM FORMA DE ARTIGO SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO

TITLE: Size of Extracapsular Extension in Axillary Lymph Node Metastasis as a Possible Predictor for Aggressive Tumor Phenotype, Nodal Tumor Burden and Worse Outcome in Node-Positive Breast Cancer Patients

Artigo submetido para publicação na Revista *Modern Pathology*

Manuscript #MP-2017-0123

TITLE: Size of Extracapsular Extension in Axillary Lymph Node Metastasis as a Possible Predictor for Aggressive Tumor Phenotype, Nodal Tumor Burden and Worse Outcome in Node-Positive Breast Cancer Patients

SHORT RUNNING TITLE: ECE Size in Breast Cancer Lymph Node Metastasis

LIST OF AUTHORS:

Francisca Indira Beltrão Colaço Costa da Matta, MD¹; Carlos Henrique de Figueiredo MS¹; Rafael Fusaro Aguiar Oliveira MS¹; Paulo Hernane Rabelo Azevedo MD¹; and Marina De Brot, MD PhD²

¹Department of Anatomic Pathology and Legal Medicine, Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais (UFMG)

²Department of Anatomic Pathology, A.C. Camargo Cancer Center

CORRESPONDING AUTHOR:

Marina De Brot, MD PhD

Attending Breast Pathologist and Professor at the Graduate and Doctoral Program of Oncology

Department of Anatomic Pathology, A.C. Camargo Cancer Center

211 Prof. Antonio Prudente Street, Sao Paulo, SP, Brazil, 01509-010

Phone: (5511) 2189-5000 - Extension line: 2722; debrot@gmail.com

WORD COUNT (from beginning of Introduction to the end of Discussion): 4,950

KEY WORDS: Breast cancer; nodal axillary metastasis; extracapsular extension; extracapsular extension size; axillary tumor implants; neoplastic emboli; recurrence; survival

ABSTRACT

Extracapsular extension (ECE) of nodal axillary metastasis is associated with worse outcome in breast cancer (BC) patients, while the size of extracapsular extension in the sentinel lymph node has been correlated with nodal tumor burden at axillary lymph node dissection (ALND). However, the prognostic value of ECE extent remains unclear. Our study analyzed the association of ECE size with clinicopathological criteria and survival in breast cancer (BC). Patients diagnosed with node-positive BC from 1994-2014 were selected at a university hospital. Chart review documented clinicopathological data. Original H&E slides were re-evaluated to determine tumor histologic type/grade, presence, size and area of ECE (largest size perpendicular to the node capsule, PECE; size measured transversely to the capsule, TECE; area, AECE). Comparisons were made by ECE extent ($<2\text{mm}$ versus $\geq 2\text{mm}$) and area. Our database quest identified 1,238 node-positive BC patients, 632 were excluded because of unavailable medical records, leaving 605 for evaluation. ECE was observed in 393 (65%) cases, either in the sentinel and/or non-sentinel nodes. When ECE was present, patients had shorter overall and disease-free survival (DFS; $p<0.01$). Compared to $<2\text{mm}$, PECE $\geq 2\text{mm}$ was significantly associated with pre-menopause, high histologic grade, N3 disease, higher number of ECE foci at ALND, axillary tumor implants and poorer DFS ($p=0.01$); whereas TECE $\geq 2\text{mm}$ and AECE $\geq 4\text{mm}^2$ correlated with N3 disease, a higher number of ECE foci, axillary tumor implants, advanced cancer stage, recurrence (for TECE only) and shorter DFS ($p<0.01$). Results were similar when applying median ECE extent instead of the 2mm cut-off. Also, axillary tumor implants/emboli correlated with worse rates of overall survival and DFS. Our findings confirm that ECE is associated with worse outcome in BC. ECE extent/area, axillary tumor implants and neoplastic emboli correlate with a more aggressive tumor phenotype, nodal tumor burden, recurrence and poorer DFS in node-positive breast cancer patients.

INTRODUCTION

Traditional pathologic parameters are among the main prognostic factors in patients with breast cancer, namely, size of the primary tumor, histologic grade and type, axillary lymph node status and angiolymphatic invasion¹. Also, expression of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR) and gene amplification or protein overexpression of the human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) are essential in assessing prognosis and predicting response to therapy in these patients²⁻⁴.

It is well established that axillary nodal involvement is a key prognostic factor in invasive breast carcinomas⁵⁻⁷. Accordingly, the greater the number of lymph node metastasis the more marked it is the decrease in patient survival^{8,9}. In addition, extracapsular extension (ECE) of nodal metastasis, defined as the spread of tumor cells through the lymph node capsule into the perinodal adipose tissue, has recently emerged as an indicator of poorer prognosis. Retrospective analyses have shown that extracapsular extension is associated with increased rates of both locoregional recurrence, distant relapse and shorter survival⁹⁻¹². Furthermore, extracapsular extension (ECE) in the sentinel lymph node (SLN) has been shown to predict metastases in non-sentinel lymph nodes¹³⁻¹⁷.

Data on extracapsular extension size and its prognostic role in breast cancer are limited. A few studies though have demonstrated that extracapsular extension (ECE) extent on sentinel lymph nodes (SLNs) is correlated with disease burden in the axilla and locoregional failure. Presence and extent of extracapsular extension (ECE) in the sentinel lymph node (SLN) were abstracted from medical records and an arbitrary cut-off point of either 1mm or 2mm was employed for the subsequent analyses¹⁸⁻²⁰. Herein, we report clinical outcomes in patients diagnosed with lymph node-positive breast cancer and we determine whether the presence, size and area of ECE in the sentinel lymph node (SLN) and non-SLNs are associated with clinicopathological criteria, disease relapse, overall survival and disease-free survival. In

order to expand our understanding of the prognostic value of the axillary disease burden, we describe the correlation between outcome and the presence of tumor implants and neoplastic emboli within lymphatic and blood capillaries in the axillary adipose tissue.

MATERIALS AND METHODS

Patient selection

Patients with a documented history of node-positive breast cancer were identified amongst cases of invasive breast carcinomas submitted to surgical treatment (mastectomy or breast conserving surgery with axillary surgery, either sentinel lymph node biopsy and/or axillary lymph node dissection - ALND) from 1/1990 to 12/2014 at the Federal University of Minas Gerais (UFMG) Clinical Hospital (Belo Horizonte, Brazil). Patients whose medical records or pathology reports could not be retrieved and cases with no specimen slides and/or paraffin blocks available for pathology review were excluded.

This study was approved by the Research Ethics Committee of our institution (protocol number CAAE 39736714.9.0000.5149).

Clinical history and tumor characteristics

Medical records and pathology reports were reviewed for data collection comprising patient demographics, menopause status, family history of breast cancer, tumor size, disease stage at initial diagnosis according to the TNM classification system maintained by the American Joint Commission on Cancer - AJCC²¹, immunochemistry (IHC) results for estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PR) when available, breast cancer stage according treatment variables, and clinical follow-up information including presence, date and type of recurrence. We evaluated estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PR) according to the Allred

scoring system and a score >2 was regarded as positive²². We opted not to include findings for the human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) protein overexpression in the analysis because fluorescence in situ hybridization (FISH) results for 2+ cases²³ were not available in our institution medical records.

Original routine haematoxylin and eosin (H&E) stained sections representative of breast primary tumors and lymph node metastases were reviewed and histologic type, grade and presence of extracapsular extension (ECE) were evaluated by a breast pathologist (MDB). Breast cancer histologic classification was based on the recommendations by Page *et al.*²⁴ and the World Health Organization (WHO) Classification of Tumors of the Breast²⁵. Tumor histologic grade was assessed using the Bloom & Richardson scoring system modified by Elston & Ellis, the so-called Nottingham grading system²⁶⁻²⁸.

Determination of the size of extracapsular extension (ECE)

ECE extent was examined by measuring each focus of ECE in the SLN and/or non-sentinel nodes at axillary lymph node dissection (ALND) in two dimensions: the largest perpendicular size of tumor spread in the node metastasis extending through the lymph node capsule into the perinodal adipose tissue (PECE, largest size perpendicular to the node capsule); the largest extent of tumor spread measured transversely to the node capsule, transversal ECE size (TECE) – Figure 1. Additionally, we calculated the ECE area (AECE= PECE x TECE) in the axillary lymph node containing the largest focus of ECE. Further, the number of ECE foci at SLN biopsy and/or axillary lymph node dissection (ALND) was also assessed. Each axillary lymph node metastasis with ECE was considered a focus of ECE and then the total number of ECE foci was determined.

Assessment of the presence of tumor implants and lymphovascular neoplastic emboli in the axilla

To proceed with our evaluation of axillary disease burden, we examined haematoxylin and eosin (H&E) stained histologic sections obtained from the axillary lymph node dissection specimen to evaluate the presence of tumor implants and neoplastic emboli within lymphatic and blood capillaries in the axillary adipose tissue. Tumor implants were defined as the presence of a breast carcinoma deposit in the axilla, with no recognizable nodal architecture and no lymph node capsule detected.

Statistical analysis

All statistical analyses were conducted with the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 20.0 (IBM Inc, Chicago, IL, USA).

Disease-free survival (DFS) was defined as the time spanning from the date of the breast cancer diagnosis to any relapse (locoregional recurrence – LRR or distant metastasis).

Univariate analysis was performed to examine the association of perpendicular ECE size (PECE), transversal ECE size (TECE) and ECE area (AECE) with clinicopathologic variables and outcome using the chi-squared test. Only the size of the largest focus of perpendicular ECE size (PECE), transversal ECE size (TECE) and ECE area (AECE) at SLN biopsy and/or axillary lymph node dissection (ALND) was taken into consideration for all tests. Firstly, comparisons were made by categorizing specimens according to ECE extent utilizing the cut-off point of 2mm previously described in the literature (<2 mm versus ≥ 2 mm)¹⁸⁻²⁰; for ECE area (AECE) we applied a cut-off value of 4mm^2 ($<4\text{mm}^2$ versus $\geq 4\text{mm}^2$). Subsequently, we conducted similar univariate analyses employing the median values of perpendicular ECE size (PECE), transversal ECE size (TECE) and ECE area (AECE) found amongst our samples, instead of the arbitrary cut-off point of 2mm. In addition, we assessed the correlation between

the number of ECE foci, presence of tumor implants and lymphovascular neoplastic emboli in the axilla with other clinicopathologic parameters via chi-squared test.

Survival analysis was conducted using the Kaplan-Meier method and survival distributions (deaths and recurrence) were compared according to perpendicular ECE size (PECE), transversal ECE size (TECE) and ECE area (AECE) and presence of axillary tumor emboli. In order to evaluate the prognostic significance of PECE, TECE, AECE, axillary neoplastic emboli, number of ECE foci and tumor implants, Cox proportional hazards regression models were used to estimate the magnitude of differences in disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) rates adjusting for all covariates examined in our study. For all analyses, a P-value of 5% was adopted.

RESULTS

Patient selection

Our database quest over a period of 24 years identified 1,238 axillary lymph node-positive breast cancer patients who underwent breast surgery with either SLN biopsy or ALND or both. Of these, 417 (33.7%) patients whose medical records could not be retrieved were excluded; also, we excluded 216 (17.4%) patients whose slides and/or paraffin blocks were not available for pathology review. Therefore, the cohort selected for this study included 605 (48.9%) patients diagnosed with breast cancer and axillary lymph node metastasis (Figure 2).

Clinicopathologic characteristics

Median age at breast cancer diagnosis was 54.1 years (range, 28 to 90 years), while 29/605 (4.8%) patients were diagnosed at an age under 35 years old. Most patients were female (600/605; 99.2%), and 5/605 (0.8%) were male. Among women, 243/600 (40.5%) patients were premenopausal, 344/600 (57.3%) were postmenopausal and for 13/600 (2.2 %) patients

this information was not available. Regarding race, 140/605 (23.1%) patients were reportedly white, 72/605 (11.9%) were black, 153/605 (25.3%) were brown-skinned (multiethnic), and 240/605 (39.7%) patients had no record of race in the medical files. A positive family history of breast cancer was detected in 186/605 (30.7%) patients.

The majority of patients received either some type of neoadjuvant (176/605; 9.1%) or adjuvant treatment (392/605; 64.8%) and the latter was given as follows: adjuvant chemotherapy (CT) alone (24/605; 4.0%); adjuvant radiation therapy (RT) alone (13/605; 2.1%); adjuvant hormone therapy (HT) alone (12/605; 2.0%); chemotherapy and radiation therapy (108/605; 17.9%); chemotherapy (CT) and hormone therapy (31/605; 5.1%); adjuvant radiation therapy (RT) and HT (15/605; 2.5%); chemotherapy (CT), adjuvant radiation therapy (RT) and hormone therapy (HT) (189/605; 31.2%). Finally, 37/605 (6.1%) patients were submitted to surgery alone.

Primary tumors were classified mainly as grade 2 (259/605; 42.8%) or 3 (257/605; 42.5%) and most breast cancers were categorized as invasive ductal carcinoma of no special type (IDC-NST), representing 67.6% (409/605) of cases. Among the remaining tumors, 71/605 (11.7%) cancers were classified as carcinoma of mixed type and 120/605 (19.8%) as carcinoma of special type.

Only 13 (2.2%) patients underwent SLN biopsy alone, while completion ALND was performed in 53 (8.8%). Among the remaining cases, 539 (89.1%) patients had primarily ALND either due to the presence of a clinically suspicious axillary lymph node, surgery being done prior to the introduction of the SLN biopsy technique in our service or technical issues that came out at the time of the procedure.

Regarding the axillary disease burden, an average of 17.8 axillary lymph nodes was removed per patient (range, 1 to 56) and the mean number of positive axillary lymph nodes detected per patient was 6.7 (range, 1 to 53).

Extranodal extension was identified in 393/605 patients (65.0%); of these, it was possible to measure the extent of ECE in 381 cases. In 12 cases the size of ECE could not be assessed due to the presence of specimen artifacts. Among all cases with ECE, 190/381 (49.9%) patients had PECE ≥ 2 mm, 252/381 (66.1%) had TECE ≥ 2 mm and 205/381 (53.8%) had AECE ≥ 4 mm². The median extent of PECE was 1.9mm, while the median extent of TECE was 2.5mm and the median AECE was 4.5mm².

Other clinical and pathologic findings are summarized in Table 1.

Follow-up, outcome and sites of metastases

At a median follow-up of 40 months (mean, 53.8; range, 1 to 394 months), 390/605 (64.4%) patients had no evidence of disease, while 160/605 (26.4%) were alive but recurred and 55/605 (9.1%) patients died from the breast cancer. Locoregional recurrence (LRR) was documented in 4.8% (29/605) of patients, whereas 127/605 (20.1%) developed distant recurrence and 59/605 (27.4%) patients went on to show local relapse associated with distant metastasis.

Overall survival (OS) ranged from 1 to 394 months (mean 53.8 months; median 40 months). Median disease-free survival (DFS) was 30 months (mean, 46.9; range, 1 to 394 months) and disseminated disease at initial diagnosis was noticed in 14 patients (2.3%).

Association of the presence of extracapsular extension with survival

We identified a worse overall survival (OS) and disease-free survival (DFS) in patients with ECE (overall survival - OS: median, 40; average, 54; range, 1 to 394 months; disease-free survival - DFS: median, 31; average, 47; range, 0 to 394 months) compared to those without ECE (OS: median, 56; average, 61; range, 1 to 209 months; DFS: median, 52; average, 56; range, 1 to 209 months; $p < 0.01$) – Figure 3.

Relationship between size and area of ECE with clinicopathologic features and patient survival

In order to evaluate if not only the presence of ECE but also its extent was associated with worse outcome, we went on to assess the relationship of the size of ECE with other clinicopathologic features and survival, using the cut-off of 2mm previously described in the literature. Initially, we examined the perpendicular extent of ECE (PECE) and then we proceeded to look over the transversal extent of ECE (TECE) and its area (AECE).

Regarding the longitudinal perpendicular extent, we observed that PECE ≥ 2 mm was significantly associated with pre-menopause, higher histologic grade, 10 or more positive lymph nodes at ALND (N3 disease), higher number of foci of ECE in the ALND specimen, and presence of tumor implants in the axilla. Survival analysis using log rank testing and Kaplan-Meier curves demonstrated that ≥ 2 mm PECE correlated significantly with a shorter DFS ($p=0.01$) but not with a shorter OS ($p=0.70$) – Figure 4. After excluding patients who received neoadjuvant treatment from the analysis, we found similar results. Moreover, by using the median extent of PECE of 1.9mm detected among our samples as the cut-off point, instead of the arbitrary 2.0mm cut-off, we noted no significant differences in our results, except for the association of ≥ 1.9 mm PECE with disease recurrence ($p=0.04$) – (Supplementary Table 1).

For the transversal extent, N3 disease, a higher number of ECE foci at ALND, presence of axillary tumor implants, advanced disease according to the TNM staging system, and cancer relapse were associated with ≥ 2 mm TECE. Equally to what we saw for PECE, ≥ 2 mm TECE correlated significantly with a worse rate of DFS ($p<0.01$), while the difference for OS was not significant ($p=0.61$) – Figure 4. By excluding patients who were given neoadjuvant therapy we found that advanced stage of disease and cancer recurrence were not significantly correlated with ≥ 2 mm TECE. Furthermore, similar results were observed when using the

median value of 2.5mm detected amongst our samples as the TECE cut-off value (Supplementary Table 1).

Furthermore, we also examined the area of ECE and observed that AECE $\geq 4\text{mm}^2$ correlated significantly with N3 disease, higher number of ECE foci, tumor implants, and advanced TNM cancer stage. Like for PECE and TECE, $\geq 4\text{mm}^2$ AECE was significantly associated with a shorter DFS ($p < 0.01$) but not with a worse OS rate ($p = 0.33$) – Figure 4.

Analogous results were found when applying the median AECE value of 4.5mm^2 as the cut-off point (Supplementary Table 1), as well as after excluding patients with neoadjuvancy from the analysis. The only exception was the association between $\geq 4.5\text{mm}^2$ AECE and disease recurrence ($p = 0.01$).

Finally, we sought to determine if ECE size in the SLN could predict metastasis at non sentinel axillary lymph nodes. Among 53 patients who underwent SLN biopsy followed by completion ALND, ECE was identified in 19 (35.2%) cases. In this subgroup of patients with ECE in the sentinel node, we observed that the mean number of positive axillary lymph nodes in the ALND specimen was higher than in the subgroup without ECE in the sentinel node (1.89 *versus* 0.94; $p = 0.01$). When stratifying the subgroup of patients with ECE in the sentinel node according to the size of PECE, we identified that patients with PECE $\geq 2\text{mm}$ had a higher number of additional positive axillary lymph nodes than the patients with PECE $< 2\text{mm}$ (mean number of 2.90 *versus* 0.78; $p = 0.04$).

The relationships between ECE size, ECE area and other clinicopathologic characteristics are summarized in Table 2 and Supplementary Table 2 (analysis including only patients without neoadjuvant therapy). Survival curves using median extents of PECE, TECE and AECE detected among our samples as the cut-off point are shown in Supplementary Figure 1.

Number of foci of extracapsular extension in the ALND specimen, presence of neoplastic emboli and tumor implants in the axilla: association with other clinicopathologic variables and outcome

In order to broaden our investigation into the relationship between axillary tumor burden and outcome, we examined the association of the number of foci of extracapsular extension at ALND, neoplastic emboli and tumor implants in the axilla with other clinicopathologic criteria and outcome.

Concerning the number of ECE foci at ALND, we observed a significant association with tumor size, histologic grade and type, N3 disease, presence of axillary neoplastic emboli and tumor implants, negativity for PR, advanced TNM stage, and disease recurrence.

In regard to the presence of neoplastic emboli within lymphatic or blood capillaries in the axillary adipose tissue, there was a correlation with younger age at breast cancer diagnosis, tumor grade and type, number of positive nodes and number of ECE foci at ALND, presence of tumor implants in the axilla, negativity for ER and PR, TNM stage of disease, and cancer relapse. Survival analysis using log rank testing and Kaplan-Meier curves demonstrated that the presence of axillary neoplastic emboli correlated significantly with worse rates of both OS ($p=0.01$) and DFS ($p<0.01$) – Figure 5.

Moreover, we examined the correlation between the presence of tumor implants in the axilla with other variables and identified a significant association with histologic grade and type, N3 disease, axillary neoplastic emboli and the number of ECE foci at ALND, advanced disease according to the TNM staging system, and cancer relapse. Survival analysis showed that the presence of tumor implants at ALND was significantly associated with a shorter OS ($p<0.01$) and DFS ($p<0.01$) – Figure 5.

A summary of these findings is shown in Table 3.

Multivariate analysis for overall survival (OS) and disease free survival (DFI) using the Cox proportional hazard model

On multivariate analysis for OS, after taking into account all clinicopathologic variables, tumor size larger than 5cm was the only covariate that retained statistical significance (Hazard Ratio, HR=3.68; Confidence Interval, CI=1.01-13.43 p=0.04; Table 4). After excluding patients who received neoadjuvant treatment from the Cox regression analysis, no variables reached statistical significance.

Regarding the multivariate analysis for DFS using the same parameters, a high histologic grade (Hazard Ratio, HR=2.39; Confidence Interval, CI=1.32-4.33; p<0.01), a higher number of foci of ECE in the ALND specimen (Hazard Ratio, HR=2.28; Confidence Interval, CI=1.11-4.70; p=0.02), and early breast cancer according to the TNM staging system (HR=0.02; CI=0.01-0.16; p<0.01) were statistically significant. Subsequently, we omitted patients with neoadjuvancy and performed a new Cox regression analysis. After adjusting for all variables, axillary nodal status was the only covariate which retained statistical significance (Hazard Ratio, HR=2.14; Confidence Interval, CI=1.10-4.16; p=0.02).

Results for the Cox regression analysis for OS and DFS are demonstrated in Table 4. Findings in the Cox regression analysis after excluding patients who received neoadjuvant therapy are displayed in Supplementary Table 3.

DISCUSSION

In the present study, we examined the prognostic role of ECE extent among lymph node-positive breast cancer patients. Our database quest identified 1,238 cases and 632 were excluded because of unavailable medical records, leaving a cohort of 605 patients. Among these, 393/605 (65%) had ECE either in the sentinel and/or non-sentinel nodes. We

determined ECE size in two dimensions, PECE and AECE, and additionally we assessed AECE, number of ECE foci at SLN biopsy and/or ALND, presence of tumor implants and neoplastic emboli in the axilla. ECE extent and area were significantly associated with several clinicopathologic features and survival. Similar findings were observed with regard to the number of ECE foci, presence of axillary tumor implants and neoplastic emboli.

Axillary nodal involvement has long been acknowledged as the main prognostic factor in breast cancer^{1,7} and, in the last years, the presence of ECE in axillary lymph node metastases has also had its prognostic value recognized. Thus, ECE has been routinely assessed in clinical practice for a while now. In our study, we confirm that ECE is a recurrent clinical finding as we identified it in 65% of cases. When compared to other series that documented 25% to 40% of patients having ECE, our rate is noticeably higher^{17,29}. Of note, many reports referred to ECE in the SNL alone whereas we examined both sentinel and non-sentinel nodes. A multi-center study of 675 patients with involvement of 1-3 SLNs showed that the occurrence of ECE differed considerably among institutions, ranging from 21% to 57%³⁰. Further, some of these studies included only clinically node-negative patients with early-stage breast cancer^{18,29}. More importantly, we were able to reproduce previous reports that had shown an association between ECE and poorer outcome^{10,11}. Our results demonstrate that when ECE was present patients had both shorter OS and DFS ($p < 0.01$).

So far, only a few studies have examined ECE extent in breast cancer nodal metastases and even fewer works have attempted to correlate ECE size with outcome. Katz and colleagues evaluated a total of 1,031 patients treated with mastectomy and doxorubicin-based chemotherapy without irradiation on five prospective trials, at a median follow-up time of 116 months, to determine patterns of locoregional recurrence. They demonstrated that a tumor size greater than 4.0 cm or extranodal extension ≥ 2 mm were predictive of locoregional recurrence (LRR) and both factors continued to significantly predict for LRR in multivariate analysis by

Cox logistic regression. Particularly, $ECE < 2\text{mm}$ was associated with a small risk of locoregional recurrence, while $\geq 2\text{mm}$ ECE correlated significantly with a higher risk of relapse and was an isolated predictor of locoregional recurrence¹⁹. Consistent with the work by Katz *et al.*¹⁹, we also found an association between ECE size, other clinicopathologic features and outcome. Nonetheless, it is important to clarify that, to our knowledge, most studies examining ECE size did not designate how ECE extent was specifically assessed (i.e., if only the largest perpendicular size of tumor spread in the node metastasis extending through the lymph node capsule into the perinodal adipose tissue was taken into consideration or if the largest extent transversal to the node capsule was also considered). Plus, the majority of previous reports were based solely on chart review to document the presence and extent of ECE. To investigate whether the method of inspection of the ECE size would affect patient outcome, all H&E-stained histologic sections obtained from the SLN biopsy and from the ALND specimen were reviewed by the same breast pathologist. We then developed a system to measure each focus of ECE in two dimensions: PECE and TECE. In this regard, we went on to calculate the ECE area (AECE) in the axillary lymph node containing the largest focus of ECE. Moreover, we sought to determine if the median extent of ECE found among our samples would better identify patients with a poorer prognosis compared to the 2.0mm cut-off point arbitrarily applied in prior studies. Juxtaposed with $PECE < 2\text{ mm}$, we observed that $PECE \geq 2\text{mm}$ was significantly associated with pre-menopause, higher histologic grade, N3 disease, higher number of foci of ECE in the ALND specimen, presence of tumor implants in the axilla, and shorter DFS but not OS. Our results did not differ after excluding patients who received neoadjuvant treatment from the analysis. By employing the median extent as the cut-off value ($\geq 1.9\text{mm}$ PECE), most results were identical to those obtained when using $PECE \geq 2\text{mm}$ as the reference value. This is expected considering that the median value we found

amongst our samples was very close to the arbitrary cutt-off of 2mm. However, we were able to identify patients with a higher risk of recurrence in the ≥ 1.9 mm PECE group ($p=0.04$).

Concerning both the transversal ECE size and area, we also demonstrated an association of ≥ 2 mm TECE and ≥ 4 mm² AECE with clinicopathologic characteristics of aggressive disease, such as advanced TNM stage, cancer relapse (for TECE only) and worse rates of DFS. These findings are comparable with the results described by Katz *et al*¹⁹. Yet, when using the median TECE/AECE cut-off point (≥ 2.5 mm TECE; ≥ 4.5 mm² AECE) we failed to see any significant differences compared to the ≥ 2.0 mm TECE/ ≥ 4.0 mm² AECE reference value, except for the association between ≥ 4.5 mm² AECE and disease recurrence ($p=0.01$).

Finally, even though ECE size did not retain statistical significance in multivariate analysis, a greater extent of PECE, TECE and AECE were all associated with parameters of aggressive disease and were predictive of cancer relapse and poorer DFS. These results did not vary after excluding patients with neoadjuvancy from the analysis. Moreover, of interest, a higher number of ECE foci in the ALND specimen was statistically significant in the Cox regression analysis for DFS ($p=0.02$).

ECE extent was also examined by Choi *et al*.²⁰ in a retrospective cohort study which included 208 patients (2000-2012) treated at a single tertiary cancer center. They only selected patients with breast cancer meeting the American College of Surgeons Oncology Group (ACOSOG) Z0011 trial criteria (pT1-T2, cN0 with <3 positive SLNs) in order to define whether stratification based on ECE size in the SNL would be a predictor of increased nodal burden, disease recurrence, or overall survival. In contrast to our results, they found no significant differences in recurrence between the group without ECE, the group with ≤ 2 mm ECE and the group with >2 mm ECE though in their series the authors only selected early stage breast cancer patients, whereas in our cohort we did not apply the same inclusion criteria and patients with advanced disease were also evaluated. Still, the mean total number of positive

lymph nodes at ALND differed significantly between all groups²⁰, a finding that we were capable of portraying in our cohort.

Presence and size of ECE in the SLN have recently been recognized as predictors of non-sentinel node tumor burden in SLN-positive breast cancer patients^{18,29}. Gooch *et al.*¹⁸ reported a single institution experience with patients undergoing SLN biopsy. A cohort of 778 patients meeting Z0011 clinicopathologic criteria from 2006 to 2013 was selected and categorized according to presence and extent (≤ 2 mm versus > 2 mm) of ECE in the SLN. A greater axillary disease burden at ALND was significantly correlated with presence and extent of ECE in the SLN and on multivariate analysis > 2 mm ECE was the strongest predictor of ≥ 4 positive nodes in the axilla. Hence, the authors advocate that > 2 mm of ECE could be an indication for ALND or RT in patients with metastases in < 3 SLNs who met Z0011 criteria¹⁸. Likewise, we sought to analyze if ECE presence and size in the SLN could predict metastasis at non-sentinel axillary lymph nodes. In our study, 53 patients were submitted to SLN biopsy followed by completion ALND and ECE was detected in 19 cases. In the subgroup of patients with ECE in the SLN, the average number of positive axillary lymph nodes in the ALND specimen was higher than in the subgroup without ECE in the sentinel node (1.89 versus 0.94; $p=0.01$). When subdividing the group of patients with ECE in the SLN according to PECE size, we show that patients with PECE ≥ 2 mm had a higher number of additional node metastases compared to the group with PECE < 2 mm (2.90 versus 0.78; $p = 0.04$).

Another work that assessed ECE extent evaluated 498 patients treated for invasive breast cancer from 1991 to 1996 to investigate whether ECE in axillary node metastases would be predictive for the number of positive lymph nodes at ALND³¹. In this study, Palamba *et al.*³¹ classified ECE as absent, minimal (≤ 1 mm) or extensive (> 1 mm). Akin to our findings, they showed that the number of positive nodes in patients with > 1 mm ECE was significantly

higher when compared with the groups with minimal ECE and absent ECE. But, this study did not examine the association between ECE size and outcome³¹.

Our study is also the first to evaluate the association of outcome and clinicopathologic criteria with the number of ECE foci in the SNL biopsy and/or at ALND, presence of tumor implants and neoplastic emboli within lymphatic/blood capillaries vessels in the axillary adipose tissue. Axillary tumor implants and neoplastic emboli were identified in 20.0% and 20.5% of patients, respectively. Interestingly, a higher number of ECE foci, presence of axillary tumor implants and emboli correlated with clinicopathologic features indicative of an aggressive biological behavior, for instance negativity for ER and PR, advanced TNM stage of disease, and cancer relapse. Moreover, tumor implants/emboli in the axilla were associated with worse rates of both overall and disease-free survival. Although not statistically significant, we noticed a trend for the association between axillary neoplastic emboli and distant relapse ($p=0.08$). We hypothesize that patients showing tumor emboli in the axilla at initial diagnosis might have a greater risk of distant metastasis and death.

We acknowledge the limitations of this cohort, the heterogeneity in our series of patients and the retrospective nature of our study. Strengths of our work include a large patient population; central pathology review of all primary tumors, lymph node metastases, presence and size of ECE; assessment of ECE in two dimensions and area; utilization of both an arbitrary cut-off point and a novel reference value based on the median extent and area of ECE; adjustment for clinicopathologic and treatment variables in multivariate analysis.

In conclusion, in this large series of consecutively treated patients, we confirm that ECE in metastatic axillary lymph nodes is a common histological finding in breast cancer. In our series spanning over 24 years, we demonstrate that ECE is associated with worse overall and disease-free survival. Albeit the role as an independent prognostic factor could not be attested, extent and area of ECE, axillary tumor implants and neoplastic emboli were all shown to be

correlated with a more aggressive tumor phenotype, nodal tumor burden, recurrent disease and poorer disease-free survival in breast cancer lymph node-positive patients. Median ECE extents found amongst our samples do not appear to have more value than the arbitrary 2mm cut-off to identify patients with a poorer prognosis. Presence of tumor implants and neoplastic emboli in the axilla were also associated with higher mortality rates. Even though our numbers are smaller, we were able to confirm previous reports which showed that ≥ 2 mm of ECE in the SLN is associated with nodal tumor burden at ALND. Multivariate analysis demonstrated that a higher number of ECE foci in the ALND specimen has independent prognostic power to predict a worse DFS after adjustment for other variables. Lastly, our data in conjunction with other contemporary studies indicate that reporting of ECE size should be standardized and required. Long-term follow-up data on larger cohorts and an ongoing discussion amongst pathologists are needed to outline the best cut-off value for ECE extent. Our results indicate that the pathologic reports must include information of the largest focus of ECE in axillary nodes.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

FIBCCM, CHF, RFAO and PHRA participated in the acquisition of data. FIBCCM and MDB participated in the review of clinical slides and figure preparation. FIBCCM and MDB drafted the manuscript. MDB conceived the study and was responsible for its design and coordination. All authors have read and given final approval of the version submitted for publication consideration.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by the Pro-Rectorry of Research of the Federal University of Minas Gerais and by CAPES.

DISCLOSURE/DUALITY OF INTEREST

The authors have no competing interests to declare.

Supplementary information is available at Modern Pathology's website.

REFERENCES

1. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D *et al.* Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab. Med* 2000;124:966-978.
2. Allred DC, Harvey JM, Bernardo M *et al.* Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol* 1998;11:155-168.
3. Gobbi H, Rocha RM, Nunes CB. Predictive factors of breast cancer evaluated by immunohistochemistry. *J Bras Pathol Med Lab* 2008;44:131-140.
4. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD *et al.* Meeting highlights: International expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Ann Oncol* 2005;16:1569-1583.
5. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS *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* 2013;24:2206-2223.
6. Esposito A, Criscitiello C, Curigliano G. Highlights from the 14(th) St Gallen International Breast Cancer Conference 2015 in Vienna: Dealing with classification, prognostication, and prediction refinement to personalize the treatment of patients with early breast cancer. *Ecancermedicalscience* 2015;9:518.
7. Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *The Oncologist* 2004;9:606-616.

8. Wallgren A, Bonetti M, Gelber RD *et al.* Risk factors for locoregional recurrence among breast cancer patients: results from international breast cancer study group trials I through VII. *J Clin Oncol* 2003;21:1205-1213.
9. Gruber G, Cole BF, Castiglione-Gertsch M *et al.* Extracapsular tumor spread and the risk of local, axillary and supraclavicular recurrence in node-positive, premenopausal patients with breast cancer. *Ann Oncol* 2008;19:1393–1401.
10. Bucci JA, Kennedy CW, Burn J *et al.* Implications of extranodal spread in node positive breast cancer: a review of survival and local recurrence. *The Breast* 2001;10:213-219.
11. Altinyollar H, Berberoglu U, Gulben K *et al.* The correlation of extranodal invasion with other prognostic parameters in lymph node positive breast cancer. *J Surg Oncol* 2007;95:567-571.
12. Drinka E, Allen P, McBride A, Buchholz T *et al.* Metastatic tumor volume and extranodal extension: clinical significance in patients with stage II breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2015;139:1288-1294.
13. Turner RR, Chu KU, Qi K *et al.* Pathologic features associated with nonsentinel lymph node metastases in patients with metastatic breast carcinoma in a sentinel lymph node. *Cancer* 2000;89:574-581.
14. Abdessalam SF, Zervos EE, Prasad M *et al.* Predictors of positive axillary lymph nodes after sentinel lymph node biopsy in breast cancer. *Am J Surg* 2001;182:316-320.
15. Fujii T, Yanagita Y, Fujisawa T *et al.* Implication of extracapsular invasion of sentinel lymph nodes in breast cancer: prediction of nonsentinel lymph node metastasis. *World J Surg* 2010;34:544-548.
16. van la Parra RF, Peer PG, Ernst MF *et al.* Meta-analysis of predictive factors for non-sentinel lymph node metastases in breast cancer patients with a positive SLN. *Eur J Surg Oncol* 2011;37:290-299.

17. Nottegar A, Veronese N, Senthil M *et al.* Extra-nodal extension of sentinel lymph node metastasis is a marker of poor prognosis in breast cancer patients: A systematic review and an exploratory meta-analysis. *Eur J Surg Oncol* 2016;42:919-925.
18. Gooch J, King TA, Eaton A *et al.* The extent of extracapsular extension may influence the need for axillary lymph node dissection in patients with T1–T2 breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2014;21:2897-2903.
19. Katz A, Strom EA, Buchholz TA *et al.* Locoregional recurrence patterns after mastectomy and doxorubicin-based chemotherapy: implications for postoperative irradiation. *J Clin Oncol* 2000;18:2817-2827.
20. Choi AH, Blount S, Perez MN *et al.* Size of extranodal extension on sentinel lymph node dissection in the American College of Surgeons Oncology Group Z0011 Trial Era. *JAMA Surg* 2015;150:1141-1148.
21. AJCC Cancer Staging Manual Seventh Edition. New York, NY: Springer, 2010.
22. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, *et al.* 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* 1999;17:1474-1481.
23. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, *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* 2013;31:3997-4013.
24. Page DL, Jensen RA, Simpson JF. Premalignant and malignant disease of the breast: the roles of the pathologist. *Mod Pathol* 1998;11:1201-128.
25. Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, *et al.* WHO Classification of Tumours of the Breast, Fourth Edition. Lyon: IARC Press, 2012.
26. Elston CW, Ellis IO. The Breast. 3th.ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1998.

27. Ellis IO, Elston C W. Histologic grade (chapter 19). In: O'Malley FP, Pinder SE, editors. *Breast Pathology*. Philadelphia, PA: Elsevier, 2006. p. 225-233.
28. Bloom HJG, Richardson WW. Histologic grading and prognosis in breast cancer. *Br J Cancer* 1957;11:359-377.
29. Stitzenberg KB, Meyer AA, Stern SL *et al*. Extracapsular extension of the sentinel lymph node metastasis: a predictor of nonsentinel node tumor burden. *Ann Surg* 2003;237:607-613.
30. Meretoja TJ, Audisio RA, Heikkila PS *et al*. International multicenter tool to predict the risk of four or more tumor-positive axillary lymph nodes in breast cancer patients with sentinel node macrometastases. *Breast Cancer Res Treat* 2013; 138:817-27.
31. Palamba HW, Rombouts MC, Ruers Th JM *et al*. Extranodal extension of axillary metastasis of invasive breast carcinoma as a possible predictor for the total number of positive lymph nodes. *Eur J Surg Oncol* 2001;27:719-722.
32. Carey LA, Perou CM, Livasy CA *et al*. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006;295: 2492-2502.

FIGURE LEGENDS

Figure 1 – Histologic section of a lymph node breast cancer metastasis in the axilla with extracapsular extension (ECE) to the perinodal adipose tissue: Longitudinal size of ECE (PECE) perpendicular to the node capsule and transversal size of ECE (TECE) measured transversely to the node capsule

(A) Panoramic view of the slide stained with hematoxylin and eosin, 10x magnification

(B) Detail of the nodal axillary breast cancer metastasis showing how the perpendicular longitudinal extent (PECE) and the transversal extent (TECE) of the extracapsular extension were obtained, 20x magnification

Figure 2 – Patient selection flow diagram representative of the database search for consecutive cases of breast cancer with axillary lymph node metastasis from 1990 to 2014

Figure 3 – Kaplan-Meier curves demonstrating a significant association between the presence of extracapsular extension (ECE) and survival

(A) Overall survival (OS), $p < 0.01$

(B) Disease-free survival (DFS), $p < 0.01$

Figure 4 – Survival analysis showing significant associations between the longitudinal perpendicular extent (PECE), transversal extent (TECE) and area (AECE) of extracapsular extension and disease free survival (DFS), but not with overall survival (OS) using Kaplan-Meier survival curves

(A) and (B) Relationship between PECE, overall survival ($p = 0.70$) and disease-free interval ($p = 0.01$)

(C) and (D) Relationship between TECE, overall survival ($p = 0.61$) and disease-free interval ($p < 0.01$)

(E) and (F) Relationship between AECE, overall survival ($p=0.33$) and disease-free interval ($p<0.01$)

Figure 5 – Kaplan-Meier curves demonstrating a significant correlation between the presence of tumor implants and neoplastic emboli within lymphatic or blood capillaries in the axillary adipose tissue and survival

(A) and (B) Relationship between tumor implants in the axilla, overall survival ($p<0.01$) and disease-free interval ($p<0.01$)

(C) and (D) Relationship between tumor emboli in the axilla, overall survival ($p=0.01$) and disease-free interval ($p<0.01$)

FIGURES

FIGURE 1

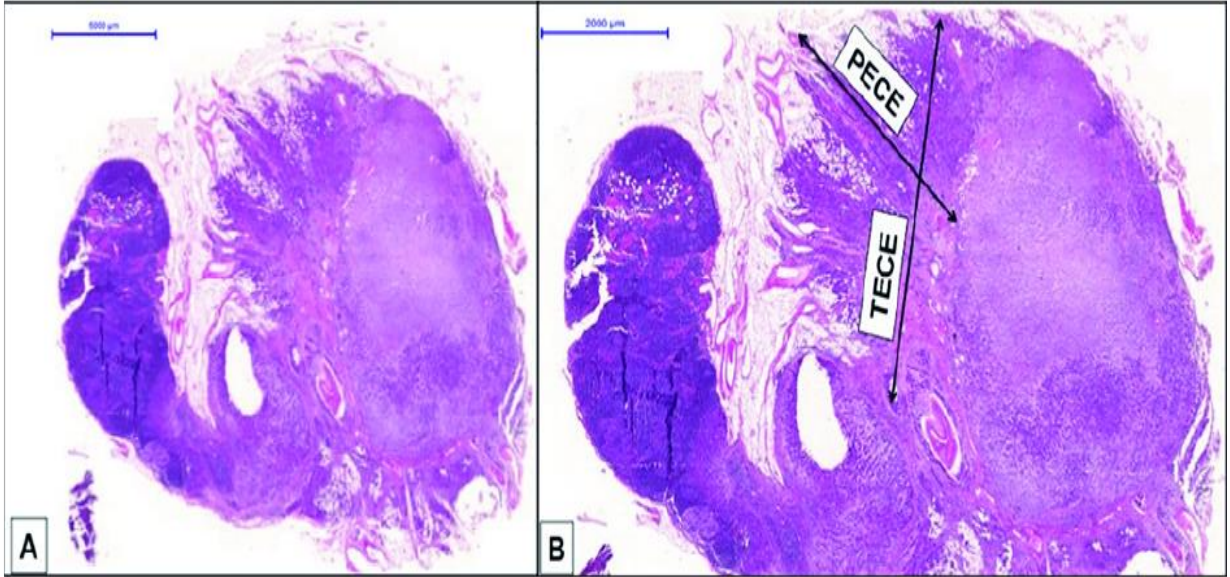


FIGURE 2

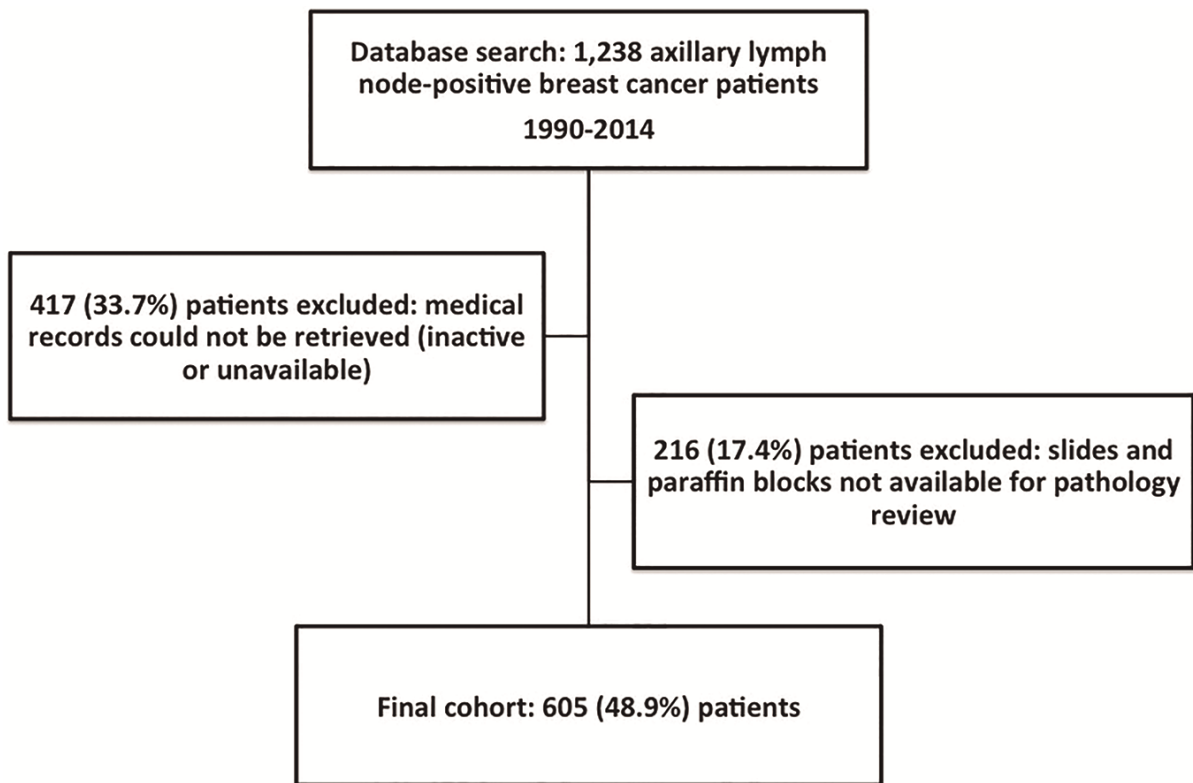


FIGURE 3

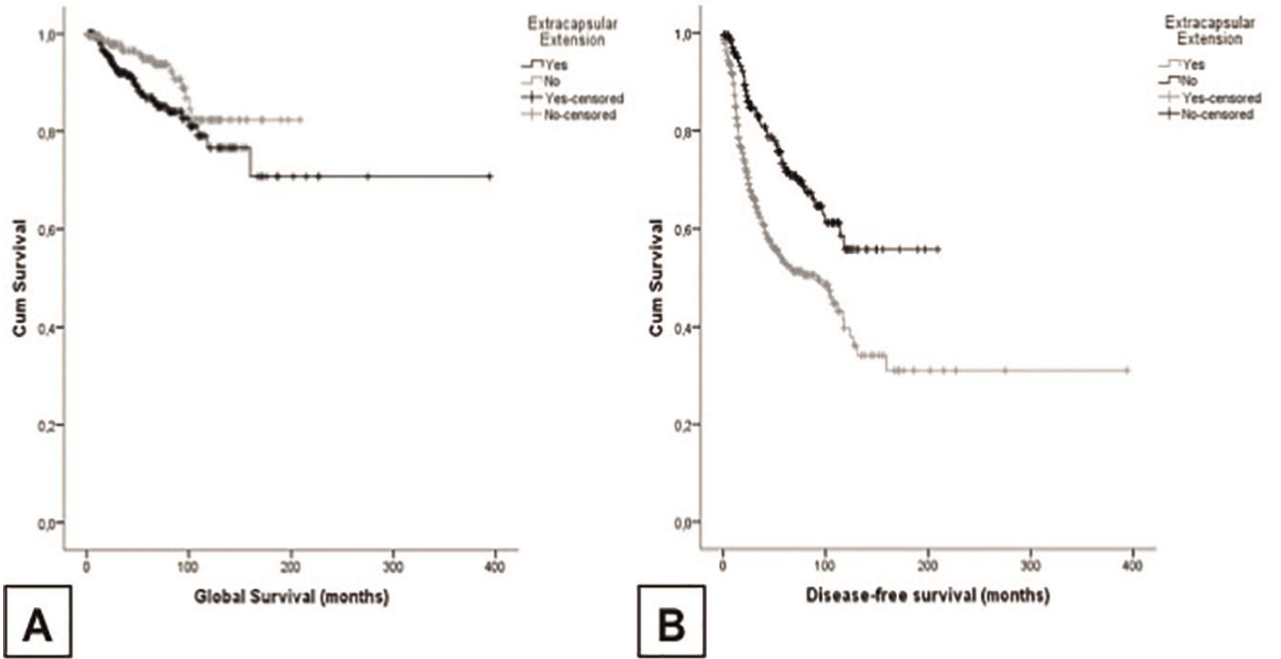


FIGURE 4

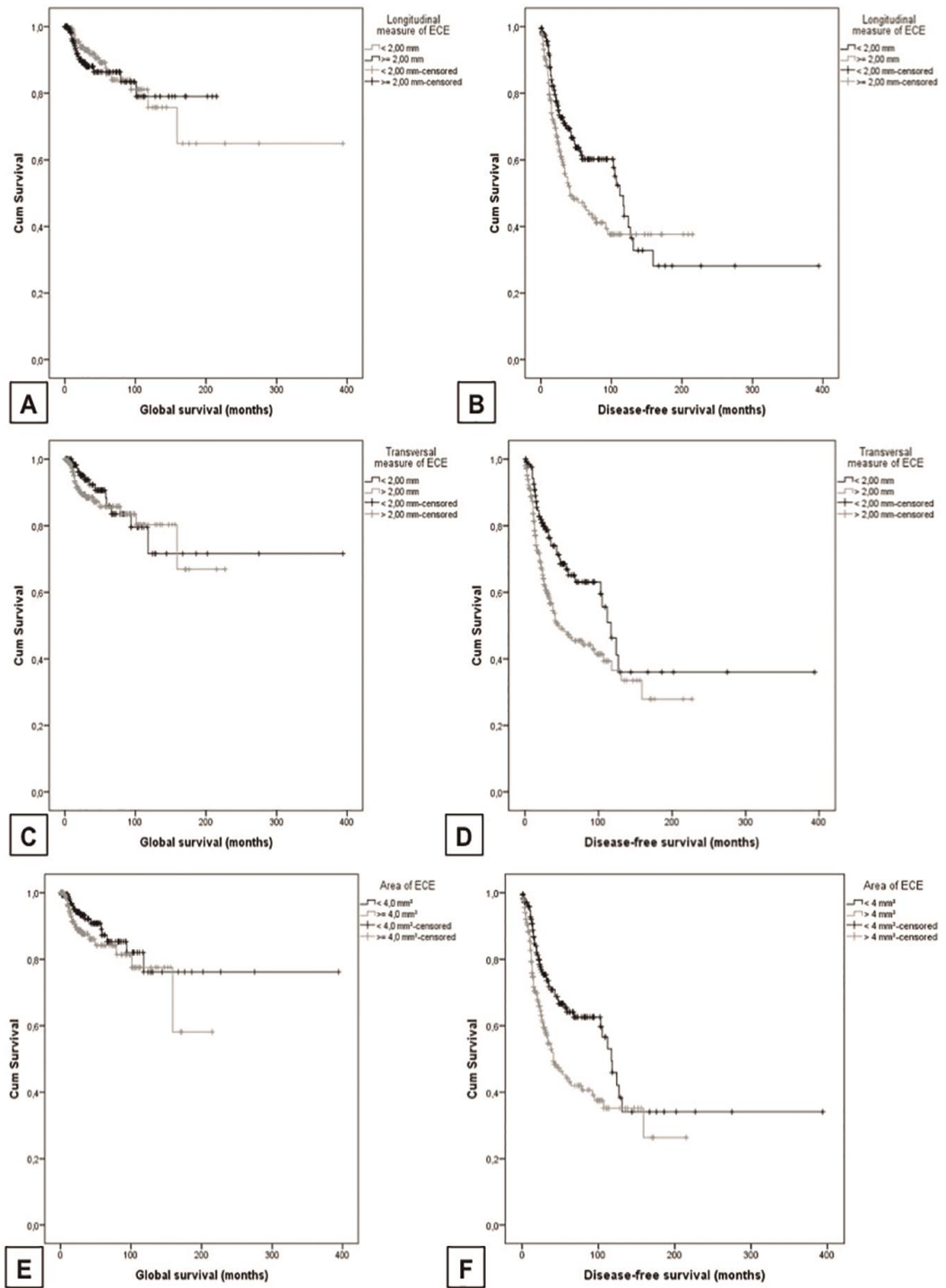
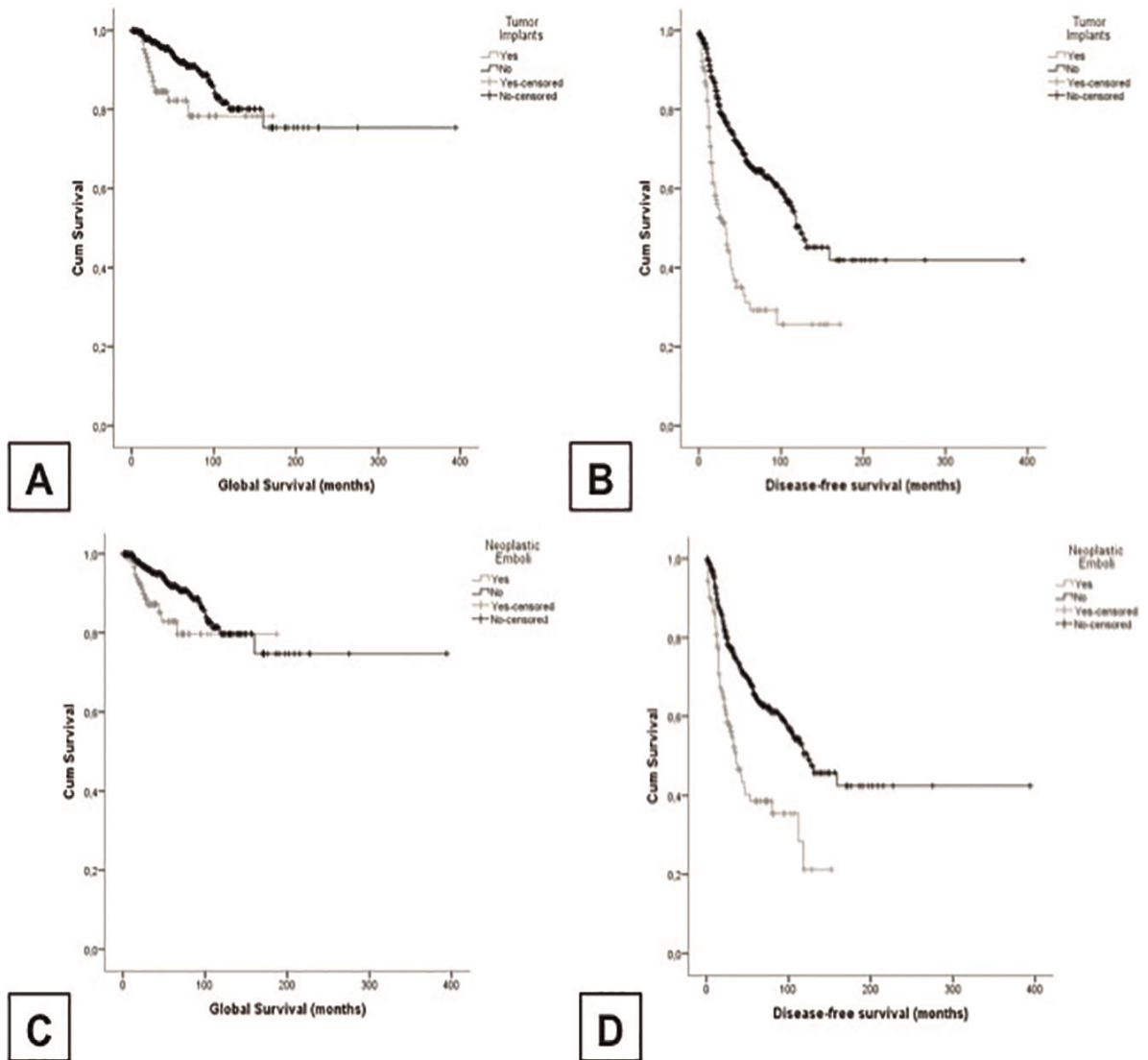


FIGURE 5



TABLES

Table 1 – Characteristics of patients, primary tumors and axillary disease burden: clinic and pathologic findings

Parameter	Number of Patients (N)	Percentage (%)
Sex		
Female	600	99.2
Male	5	0.8
Age		
< 35 years	29	4.8
35 - 50 years	241	39.8
> 50 years	335	55.4
Location of the primary tumor		
Right breast	308	50.9
Left breast	277	45.8
Bilateral breast cancer	14	2.3
Missing*	6	1.0
Tumor size		
≤ 2cm	111	18.3
2cm - 5cm	329	54.4
> 5 cm	153	25.3
Missing*	12	2
Histologic grade		
Grade 1	83	13.7
Grade 2	259	42.8
Grade 3	257	42.5
Missing**	6	1
Histologic type		
Invasive ductal carcinoma of NST	409	67.6
Invasive breast carcinoma of mixed type	71	11.7
Invasive ductal carcinoma with micropapillary features	59	9.7
Other variants	12	2
Invasive breast carcinoma of special type	120	19.8
Invasive micropapillary carcinoma	41	6.8
Invasive lobular carcinoma	25	4.1
Invasive apocrine carcinoma	10	1.7
Invasive tubular carcinoma	8	1.3
Other special types	36	5.9
Missing**	5	0.8
Pathologic TNM stage		
Stage 0***	6	1.0
Stage II	203	33.6

Parameter	Number of Patients (N)	Percentage (%)
Stage III	376	62.1
Stage IV	14	2.3
Missing*	6	1.0
Median number of axillary LNs removed at ALND	22 (1-56)	N/A
Median number of axillary LNs with metastasis at ALND	15 (1-53)	N/A
ECE		
Present	393	65.0
Absent	212	35.0
Tumor implant in the axilla		
Present	121	20.0
Absent	484	80.0
Neoplastic emboli in the axillary adipose tissue		
Present	124	20.5
Absent	481	79.5
ER		
Positive	326	53.9
Negative	151	25
Missing****	128	21.1
PR		
Positive	274	45.3
Negative	158	26.1
Missing****	173	28.6
Recurrence		
Yes	215	35.5
No	390	64.4
Type of recurrence (N = 215)		
Local	29	13.5
Distant	127	59.1
Local and distant	59	27.4
Sites of metastases		
Bone	125	20.6
Lung	79	13.0
Liver	66	10.9
Central nervous system	21	3.4
Pleura	16	2.6
Other sites	27	4.4

Abbreviations: NST, No special type; ALND, Axillary lymph node dissection; ER, Estrogen receptor; PR, Progesterone receptor; LNs, Lymph nodes; ECE, Extracapsular extension; N/A, not applicable.

*Cases for which information regarding menopausal status, family history, tumor location, tumor size and/or pathologic TNM stage could not be retrieved.

**Cases for which information regarding histologic grade and type could not be retrieved and slides and/or paraffin blocks were not available to review.

***Patients who were diagnosed with ductal carcinoma in situ and axillary metastases but no invasive cancer was found in the specimen(s) examined.

***Patients with no immunohistochemistry results available in their medical records.

Table 2 – Association of the size and area of ECE with clinicopathologic criteria and outcome

Parameter	N	PECE N = 381		P value	TECE N = 381		P value	AECE N = 381		P value
		< 2mm (N = 191) N (%)	≥ 2mm (N = 190) N (%)		< 2mm (N = 129) N (%)	≥ 2mm (N = 252) N (%)		< 4mm ² (N = 176) N (%)	≥ 4mm ² (N = 205) N (%)	
Age	381 (100%)									
< 35 years	19	11 (2.9)	8 (2.1)	0.26	7 (1.8)	12 (3.2)	0.94	11 (2.9)	8 (2.1)	0.44
35 - 50 years	155	84 (22.1)	71 (18.6)		53 (13.9)	102 (26.8)		74 (19.4)	81 (21.2)	
> 50 years	207	96 (25.2)	111 (29.1)		69 (18.1)	138 (36.2)		91 (23.9)	116 (30.5)	
Menopause				0.03			0.76			0.72
Yes	161	86 (22.6)	75 (19.7)		52 (13.6)	109 (28.6)		78 (20.5)	83 (21.8)	
No	208	95 (24.9)	113 (29.7)		73 (19.2)	135 (35.4)		92 (24.1)	116 (30.4)	
Missing*	12	10 (2.6)	2 (0.5)		4 (1.1)	8 (2.1)		6 (1.6)	6 (1.6)	
Family history				0.46			0.97			0.97
Positive	119	63 (16.5)	56 (14.7)		40 (10.5)	79 (20.7)		54 (14.2)	65 (17.1)	
Negative	219	110 (28.9)	109 (28.6)		75 (19.7)	144 (37.8)		102 (26.8)	117 (30.7)	
Missing*	43	18 (4.7)	25 (6.6)		14 (3.7)	29 (7.6)		20 (5.2)	23 (6.0)	
Tumor size				0.96			0.41			0.88
≤ 2cm	60	30 (7.9)	30 (7.9)		18 (4.7)	42 (11.0)		28 (7.3)	32 (8.4)	
2cm - 5cm	207	103 (27.0)	104 (27.3)		76 (19.95)	131 (34.4)		97 (25.5)	110 (28.9)	
> 5 cm	109	56 (14.7)	53 (13.9)		33 (8.7)	76 (19.95)		48 (12.6)	61 (16.0)	
Missing*	5	2 (0.5)	3 (0.8)		2 (0.5)	3 (0.8)		3 (0.8)	2 (0.5)	
Histologic grade				0.01			0.59			0.46
Grade 1	48	33 (8.7)	15 (3.9)		19 (5.0)	29 (7.6)		26 (6.8)	22 (5.8)	
Grade 2	164	81 (21.3)	83 (21.8)		52 (13.7)	112 (29.4)		74 (19.45)	90 (23.6)	
Grade 3	167	75 (19.7)	92 (24.1)		56 (14.7)	111 (29.1)		74 (19.45)	93 (24.4)	
Missing**	2	2 (0.5)	0 (0.0)		2 (0.5)	0 (0.0)		2 (0.5)	0 (0.0)	
Histologic type				0.91			0.64			0.71
IDC-NST	255	129 (33.9)	126 (33.1)		82 (21.5)	173 (45.4)		115 (30.2)	140 (36.8)	
Invasive breast carcinoma of mixed type	57	28 (7.3)	29 (7.6)		22 (5.8)	35 (9.2)		29 (7.6)	28 (7.3)	

Parameter	N	PECE N = 381		P value	TECE N = 381		P value	AECE N = 381		P value
		< 2mm (N = 191) N (%)	≥ 2mm (N = 190) N (%)		< 2mm (N = 129) N (%)	≥ 2mm (N = 252) N (%)		< 4mm ² (N = 176) N (%)	≥ 4mm ² (N = 205) N (%)	
Invasive breast carcinoma of special type	67	32 (8.4)	35 (9.2)		23 (6.0)	44 (11.6)		30 (7.9)	37 (9.7)	
Missing**	2	2 (0.5)	0 (0.0)	0.29	2 (0.5)	0 (0.0)	0.01	2 (0.5)	0 (0.0)	0.02
Pathologic TNM stage										
Stage 0***	2	1 (0.3)	1 (0.3)		1 (0.3)	1 (0.3)		1 (0.3)	1 (0.3)	
Stage I	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		0 (0.0)	0 (0.0)		0 (0.0)	0 (0.0)	
Stage II	86	49 (12.9)	37 (9.7)		39 (10.2)	47 (12.3)		50 (13.1)	36 (9.4)	
Stage III	278	136 (35.7)	142 (37.3)		87 (22.8)	191 (50.1)		121 (31.7)	157 (41.2)	
Stage IV	13	4 (1.0)	9 (2.3)		1 (0.3)	12 (3.1)		3 (0.8)	10 (2.6)	
Missing*	2	1 (0.3)	1 (0.3)	<0.01	1 (0.3)	1 (0.3)	<0.01	1 (0.3)	1 (0.3)	<0.01
Positives LNs at ALND										
≤ 3	110	67 (35.1)	43 (22.6)	<0.01	51 (13.4)	59 (15.5)	<0.01	66 (17.3)	44 (11.5)	<0.01
4 - 9	135	78 (40.8)	57 (30.0)		52 (13.6)	83 (21.8)		73 (19.2)	62 (16.3)	
≥ 10	136	46 (24.1)	90 (47.4)	<0.01	26 (6.8)	110 (28.9)	<0.01	37 (9.7)	99 (26.0)	<0.01
Number of ECE foci at ALND										
≤ 3	267	163 (85.3)	104 (54.7)		111 (29.2)	156 (41.0)		152 (39.9)	115 (30.2)	
4 - 9	89	27 (14.1)	62 (32.6)		16 (4.2)	73 (19.1)		23 (6.0)	66 (17.3)	
≥ 10	25	1 (0.5)	24 (12.6)	<0.01	2 (0.5)	23 (6.0)	<0.01	1 (0.3)	24 (6.3)	<0.01
Tumor implant in the axilla										
Present	109	32 (16.8)	77 (40.5)		21 (5.5)	88 (23.1)		24 (24.3)	85 (22.3)	
Absent	272	159 (83.2)	113 (59.5)	0.16	108 (28.3)	164 (43.1)	0.14	152 (39.9)	120 (31.5)	0.66
Axillary neoplastic emboli										
Present	104	46 (24.1)	58 (30.5)		29 (7.6)	75 (19.7)		46 (12.1)	58 (15.2)	
Absent	277	145 (75.9)	132 (69.5)		100 (26.3)	177 (46.4)		130 (34.1)	147 (38.6)	

Parameter	N	PECE N = 381		P value	TECE N = 381		P value	AECE N = 381		P value
		< 2mm (N = 191) N (%)	≥ 2mm (N = 190) N (%)		< 2mm (N = 129) N (%)	≥ 2mm (N = 252) N (%)		< 4mm ² (N = 176) N (%)	≥ 4mm ² (N = 205) N (%)	
ER										
Positive	201	105 (55.0)	96 (50.5)	0.11	74 (19.4)	127 (33.3)	0.41	98 (25.7)	103 (27.0)	0.57
Negative	95	39 (20.4)	56 (29.5)		30 (7.9)	65 (17.1)		41 (10.8)	54 (14.2)	
Missing****	85	47 (24.6)	38 (20.0)		25 (6.6)	60 (15.7)		37 (9.7)	48 (12.6)	
PR										
Positive	169	87 (45.6)	82 (43.1)	0.28	61 (16.0)	108 (28.4)	0.52	84 (22.0)	85 (22.3)	0.46
Negative	107	47 (24.6)	60 (31.6)		37 (9.7)	70 (18.4)		47 (12.3)	60 (15.8)	
Missing****	105	57 (35.4)	48 (25.3)		31 (8.1)	74 (19.4)		45 (11.8)	60 (15.8)	
Recurrence										
Present	151	67 (35.1)	84 (44.2)	0.07	41 (10.7)	110 (28.9)	0.02	57 (15.0)	94 (24.7)	0.07
Absent	230	124 (64.9)	106 (55.8)		88 (23.1)	142 (37.3)		119 (31.2)	111 (29.1)	
Type of recurrence	151			0.83			0.43			0.22
	(100%)									
Local	22	11 (16.4)	11 (13.1)		8 (5.3)	14 (9.3)		10 (6.6)	12 (8.0)	
Distant	91	40 (59.7)	51 (60.7)		25 (16.5)	66 (43.7)		37 (24.5)	54 (35.8)	
Local + distant	38	16 (23.9)	22 (26.2)		8 (5.3)	30 (19.9)		10 (6.6)	28 (18.5)	

Abbreviations: PECE, Perpendicular extent of extracapsular extension; TECE, Transversal extent of extracapsular extension; AECE, Area of extracapsular extension; IDC-NST, Invasive ductal carcinoma of no special type; LNs, Lymph nodes; ALND, Axillary lymph node dissection; ECE, Extracapsular extension; ER, Estrogen Receptor; PR, Progesterone receptor.

*Cases for which information regarding menopausal status, family history, tumor size and/or pathologic TNM stage could not be retrieved.

**Cases for which information regarding histologic grade and type could not be retrieved and slides and/or paraffin blocks were not available to review.

***Patients who were diagnosed with ductal carcinoma in situ and axillary metastases but no invasive cancer was found in the specimen(s) examined.

****Patients with no immunohistochemistry results available in their medical records.

Parameter	N	Number of ECE Foci			P value	N	Axillary Neoplastic Emboli		P value	N	Tumor implant in the Axilla		P value
		Total N = 393					Total N = 605				Total N = 605		
		≤3	4-9	≥10			Absent	Present			Absent	Present	
		(N=279)	(N=89)	(N=25)			(N=481)	(N=124)			(N=484)	(N=121)	
	393	N (%)	N (%)	N (%)		605	N (%)	N (%)		605	N (%)	N (%)	
	(100%)					(100%)				(100%)			
Positive	175	120(30.5)	46(11.7)	9(2.3)		274	214(35.4)	60(9.9)		274	225(37.2)	49(8.1)	
Negative	111	78(19.8)	20(5.1)	13(3.3)		173	123(20.3)	50(8.3)		173	138(22.8)	35(5.8)	
Missing****	107	81(20.6)	23(5.9)	3(0.8)		158	144(23.8)	14(2.3)		158	121(20.0)	37(6.1)	
Recurrence					<0.01								<0.01
Present	157	98(24.9)	40(10.2)	19(4.8)		215	151(25.0)	64(10.6)		215	150(24.8)	65(10.7)	
Absent	236	181(46.1)	49(12.5)	6(1.5)		390	330(54.5)	60(9.9)		390	334(55.2)	56(9.3)	
Type of recurrence	157				0.18	215			0.08	215			0.99
	(100%)					(100%)				(100%)			
Local	22	16(10.2)	4(2.5)	2(1.3)		29	18(8.4)	11(5.1)		29	20(9.3)	9(4.2)	
Distant	96	64(40.8)	22(14.0)	10(6.3)		127	96(44.7)	31(14.4)		127	89(41.4)	38(17.7)	
Local and distant	39	18(11.5)	14(8.9)	7(4.5)		59	36(16.7)	23(10.7)		59	41(19.0)	18(8.4)	

Abbreviations: LNs, Lymph nodes; ALND, Axillary lymph node dissection; ECE, Extracapsular extension; ER, Estrogen Receptor; PR, Progesterone receptor; HER2, Human epidermal growth factor receptor 2; FISH, Fluorescence in situ hybridization; PECE, Perpendicular extent of extracapsular extension; TECE, Transversal extent of extracapsular extension; AECE, Area of extracapsular extension

*Cases for which information regarding menopausal status, family history, tumor size and/or pathologic TNM stage could not be retrieved.

**Cases for which information regarding histologic grade and type could not be retrieved and slides and/or paraffin blocks were not available to review.

***Patients who were diagnosed with ductal carcinoma in situ and axillary metastases but no invasive cancer was found in the specimen(s) examined.

****Patients with no immunohistochemistry results available in their medical records.

Table 4 – Multivariate analysis for overall survival (OS) and disease free survival (DFS) using the Cox proportional hazard model

	Adjustment of Covariates*			Multivariate Analysis for OS		
	HR	P value	95% CI	HR	P value	95% CI
Age						
< 35 years	1	-	-	-	-	-
35 - 50 years	0.57	0.31	0.19 – 1.68	-	-	-
> 50 years	0.65	0.42	0.22 – 1.85	-	-	-
Menopause						
Yes	1.01	0.94	0.59 – 1.73	-	-	-
No	1	-	-	-	-	-
Family history						
Positive	0.94	0.85	0.52 – 1.70	-	-	-
Negative	1	-	-	-	-	-
Tumor size						
≤ 2cm	1	-	-	1	-	-
2cm - 5cm	1.37	0.45	0.60 – 3.12	1.99	0.27	0.58 – 6.77
> 5cm	2.64	0.02	1.10 – 6.30	3.68	0.04	1.01 – 13.43
Histologic grade						
Grade 1	1	-	-	-	-	-
Grade 2	1.19	0.67	0.52 – 2.72	-	-	-
Grade 3	1.74	0.17	0.78 – 3.85	-	-	-

Histologic type									
IDC-NST	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Invasive breast carcinoma of mixed type	0.97	0.95	0.43 – 2.20	-	-	-	-	-	-
Invasive breast carcinoma of special type	0.86	0.67	0.45 – 1.67	-	-	-	-	-	-
Pathologic TNM stage									
Stage 0**	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Stage I	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stage II	0.24	0.18	0.03 – 1.94	-	-	-	-	-	-
Stage III	0.68	0.70	0.09 – 4.99	-	-	-	-	-	-
Stage IV	0.54	0.66	0.03 – 8.75	-	-	-	-	-	-
Positive LNs at ALND									
≤ 3	1	-	-	1	-	-	-	-	-
4 - 9	1.33	0.40	0.67 – 2.63	1.01	0.98	0.39 – 2.58	-	-	-
> 10	2.61	<0.01	1.40 – 4.83	1.31	0.60	0.47 – 3.60	-	-	-
Number of ECE foci at ALND									
≤ 3	1	-	-	1	-	-	-	-	-
4 - 9	2.53	<0.01	1.26 – 5.08	1.97	0.11	0.84 – 4.62	-	-	-
> 10	6.57	<0.01	2.54 – 16.97	3.05	0.07	0.88 – 10.59	-	-	-
PECE									
<2mm	1	-	-	-	-	-	-	-	-
≥2mm	1.14	0.68	0.60 – 2,16	-	-	-	-	-	-
PECE (Median)									
<1.9mm	1	-	-	-	-	-	-	-	-
≥1.9mm	1.38	0.33	0.72 – 2,65	-	-	-	-	-	-
TECE									
<2mm	1	-	-	-	-	-	-	-	-

≥ 2mm	1.20	0.58	0.61 – 2,35	-	-	-
TECE (Median)						
<2.5mm	1	-	-	-	-	-
≥ 2.5mm	1.41	0.28	0,74 – 2,68	-	-	-
AECE						
<4mm ²	1	-	-	-	-	-
≥ 4mm ²	1.39	0.31	0,72 – 2,65	-	-	-
AECE (Median)						
<4.5mm ²	1	-	-	-	-	-
≥ 4.5mm ²	1.47	0,23	0,77 – 2,79	-	-	-
Tumor implants in the axilla						
	2.41	<0.01	1.33 – 4.34	1.24	0.58	0.56 – 2.75
Axillary neoplastic emboli						
	2.09	0.01	1.16 – 3.77	1.23	0.57	0.59 – 2.60
Adjustment of Covariates* Multivariate Analysis for DFS						
	HR	P value	95% CI	HR	P value	95% CI
Age						
< 35 years	1	-	-	-	-	-
35 - 50 years	0.53	0.02	0.31 – 0.91	0.74	0.44	0.35 – 1.58
> 50 years	0.50	0.01	0.29 – 0.85	0.83	0.63	0.40 – 1.75
Menopause						
Yes	1.18	0.21	0.90 – 1.56	-	-	-
No	1	-	-	-	-	-
Family history						
Positive	0.91	0.54	0.67 – 1.22	-	-	-
Negative	1	-	-	-	-	-
Tumor size						
≤ 2cm	1	-	-	-	-	-
2cm - 5cm	1.29	0.21	0.86 – 1.95	0.81	0.45	0.48 – 1.38

> 5cm	2.45	<0.01	1.59 – 3.77	1.57	0.12	0.87 – 2.82
Histologic grade						
Grade 1	1	-	-	-	-	-
Grade 2	1.32	0.19	0.86 – 2.03	1.77	0.05	0.99 – 3.17
Grade 3	1.68	0.01	1.10 – 2.56	2.39	<0.01	1.32 – 4.33
Histologic type						
IDC-NST	1	-	-	-	-	-
Invasive breast carcinoma of mixed type	1.06	0.76	0.71 – 1.58	0.78	0.35	0.47 – 1.30
Invasive breast carcinoma of special type	0.71	0.05	0.49 – 1.01	0.70	0.15	0.43 – 1.14
Pathologic TNM stage						
Stage 0***	1	-	-	-	-	-
Stage I	-	-	-	-	-	-
Stage II	1.45	0.71	0.20 – 10.5	0.02	<0.01	0.01 – 0.16
Stage III	3.24	0.24	0.45 – 23.2	0.03	<0.01	0.01 – 0.26
Stage IV	33.51	<0.01	4.33 – 259.2	0.33	0.33	0.03 – 3.09
Positive LNs at ALND						
≤3	1	-	-	-	-	-
4 - 9	2.00	<0.01	1.43 – 2.79	1.50	0.22	0.78 – 2.88
> 10	2.96	<0.01	2.14 – 4.11	1.31	0.47	0.62 – 2.75
Number of ECE foci at ALND						
≤3	1	-	-	-	-	-
4 - 9	1.56	0.01	1.08 – 2.26	1.21	0.44	0.74 – 1.98
> 10	4.22	<0.01	2.55 – 6.97	2.28	0.02	1.11 – 4.70
PECE						
<2mm	1	-	-	-	-	-
≥2mm	1.53	0.01	1.10 – 2.11	0.75	0.41	0.38 – 1.48
PECE (Median)						
						-

<1.9mm	1	-	-	-	-	-
≥1.9mm	1.59	<0.01	1.14 – 2.22	1.49	0.30	0.69 – 3.21
TECE						
<2mm	1	-	-	-	-	-
≥ 2mm	1.76	<0.01	1.23 – 2.52	1.31	0.34	0.74 – 2.31
TECE (Median)						
<2.5mm	1	-	-	-	-	-
≥ 2.5mm	1.55	<0.01	1.12 – 2.15	0.80	0.48	0.43 – 1.48
AECE						
<4mm ²	1	-	-	-	-	-
≥ 4mm ²	1.77	<0.01	1.27 – 2.46	1.05	0.92	0.38 – 2.87
AECE (Median)						
<4.5mm ²	1	-	-	-	-	-
≥ 4.5mm ²	1.79	<0.01	1.29 – 2.47	1.14	0.78	0.43 – 2.99
Tumor implants in the axilla	2.69	<0.01	2.00 – 3.61	1.16	0.27	0.76 – 1.78
Axillary neoplastic emboli	2.21	<0.01	1.65 – 2.98	1.03	0.87	0.69 – 1.54

Abbreviations: OS, Overall survival; HR, Hazard Ratio; CI, Confidence Interval; IDC-NST, Invasive ductal carcinoma of no special type; LNs, Lymph nodes; ECE, Extracapsular extension; ALND, Axillary lymph node dissection; PECE, Perpendicular extent of extracapsular extension; TECE, Transversal extent of extracapsular extension; AECE, Area of extracapsular extension; DFS, Disease-free survival.

*Only variables with a P-value < 0.10 were selected for the final Cox regression analysis model.

**Cases for which information regarding histologic grade and type could not be retrieved and slides and/or paraffin blocks were not available to review.

***Patients who were diagnosed with ductal carcinoma in situ and axillary metastases but no invasive cancer was found in the specimen(s) examined.

SUPPLEMENTAL MATERIAL

SUPPLEMENTARY TABLES

TABLES

Supplementary Table 1 – Association of the median size and area of ECE with clinicopathologic criteria and outcome

Parameter	N	PECE		P value		TECE		P value		AECE		P value
		< 1.9mm (N = 165) N (%)	≥ 1.9mm (N = 216) N (%)	< 2.5mm (N = 186) N (%)	≥ 2.5mm (N = 195) N (%)	< 4.5mm ² (N = 190) N (%)	≥ 4.5mm ² (N = 191) N (%)					
Age	381											
< 35 years	19	11 (2.9)	8 (2.1)	9 (2.4)	10 (2.6)	12 (3.2)	7 (1.8)	0.13	0.79	0.45		
35 - 50 years	155	73 (19.2)	82 (21.5)	79 (20.7)	76 (20.0)	78 (20.5)	77 (20.2)					
> 50 years	207	81 (21.2)	126 (33.1)	98 (25.7)	109 (28.6)	100 (26.2)	107 (28.1)					
Menopause												
Yes	161	78 (20.5)	83 (21.8)	78 (20.4)	83 (21.8)	83 (21.8)	78 (20.4)	0.18	0.97	0.81		
No	208	81 (21.2)	127 (33.3)	102 (26.8)	106 (27.8)	101 (26.5)	107 (28.1)					
Missing*	12	6 (1.6)	6 (1.6)	6 (1.6)	6 (1.6)	6 (1.6)	6 (1.6)					
Family history												
Positive	119	52 (13.6)	67 (17.6)	55 (13.6)	64 (16.8)	61 (16.0)	58 (15.2)	0.86	0.69	0.90		
Negative	219	96 (25.2)	123 (32.3)	108 (28.3)	111 (29.1)	107 (28.1)	112 (29.4)					
Missing*	43	17 (4.5)	26 (6.8)	23 (6.0)	20 (5.2)	22 (5.8)	21 (5.5)					
Tumor Size												
≤ 2cm	60	30 (7.9)	30 (7.9)	27 (7.1)	33 (8.7)	31 (8.2)	29 (7.6)	0.50	0.38	0.63		
2cm - 5cm	207	86 (22.6)	121 (31.7)	108 (28.3)	99 (26.0)	106 (27.8)	101 (26.5)					
> 5 cm	109	47 (12.3)	62 (16.3)	49 (12.9)	60 (15.7)	50 (13.1)	59 (15.5)					
Missing*	5	2 (0.5)	3 (0.8)	2 (0.5)	3 (0.8)	3 (0.5)	2 (0.8)					
Histologic grade												
Grade 1	48	26 (6.9)	22 (5.8)	26 (6.9)	22 (5.8)	28 (7.4)	20 (5.2)	0.19	0.67	0.40		
Grade 2	164	71 (18.6)	93 (24.4)	77 (20.2)	87 (22.8)	81 (21.2)	83 (21.8)					

Parameter	N	PECE		P value	TECE		P value	AECE		P value
		< 1.9mm (N = 165) N (%)	≥ 1.9mm (N = 216) N (%)		< 2.5mm (N = 186) N (%)	≥ 2.5mm (N = 195) N (%)		< 4.5mm ² (N = 190) N (%)	≥ 4.5mm ² (N = 191) N (%)	
Grade 3	167	66 (17.3)	101 (26.5)		81 (21.2)	86 (22.6)		79 (20.8)	88 (23.1)	
Missing**	2	2 (0.5)	0 (0.0)		2 (0.5)	0 (0.0)		2 (0.5)	0 (0.0)	
Histologic type				0.95			0.47			0.56
IDC-NST	255	111 (29.1)	144 (37.8)		127 (33.4)	128 (33.6)		127 (33.4)	128 (33.6)	
Invasive breast carcinoma of mixed type	57	24 (6.3)	33 (8.7)		29 (7.6)	28 (7.3)		31 (8.1)	26 (6.8)	
Invasive breast carcinoma of special type	67	28 (7.3)	39 (10.3)		28 (7.3)	39 (10.3)		30 (7.9)	37 (9.7)	
Missing**	2	2 (0.5)	0 (0.0)	0.32	2 (0.5)	0 (0.0)	0.04	2 (0.5)	0 (0.0)	<0.01
Pathologic TNM stage										
Stage 0***	2	1 (0.3)	1 (0.3)		1 (0.3)	1 (0.3)		1 (0.3)	1 (0.3)	
Stage I	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		0 (0.0)	0 (0.0)		0 (0.0)	0 (0.0)	
Stage II	86	44 (11.5)	42 (11.0)		52 (13.6)	34 (8.9)		57 (14.9)	29 (7.6)	
Stage III	278	115 (30.2)	163 (42.8)		128 (33.6)	150 (39.4)		126 (33.0)	152 (39.9)	
Stage IV	13	4 (1.0)	9 (2.3)		4 (1.0)	9 (2.3)		5 (1.3)	8 (2.1)	
Missing*	2	1 (0.3)	1 (0.3)	<0.01	1 (0.3)	1 (0.3)	<0.01	1 (0.3)	1 (0.3)	<0.01
Positive LNs at ALND										
≤ 3	110	60 (15.8)	50 (13.1)		68 (17.9)	42 (11.0)		73 (19.1)	37 (9.7)	
4 - 9	135	64 (16.8)	71 (18.6)		73 (19.1)	62 (16.3)		75 (19.7)	60 (15.8)	
≥ 10	136	41 (10.8)	95 (24.9)	<0.01	45 (11.8)	91 (23.9)	<0.01	42 (11.0)	94 (24.7)	<0.01
Number of ECE foci										

Parameter	N	PECE		P value	TECE		P value	AECE		P value
		< 1.9mm (N = 165) N (%)	≥ 1.9mm (N = 216) N (%)		< 2.5mm (N = 186) N (%)	≥ 2.5mm (N = 195) N (%)		< 4.5mm ² (N = 190) N (%)	≥ 4.5mm ² (N = 191) N (%)	
at ALND	381									
≤ 3	267	143 (37.5)	124 (32.5)		156 (41.0)	111 (29.1)		161 (42.2)	106 (27.8)	
4 - 9	89	22 (5.8)	67 (17.6)		28 (7.4)	61 (16.0)		28 (7.4)	61 (16.0)	
≥ 10	25	0 (0.0)	25 (6.6)		2 (0.5)	23 (6.0)		1 (0.3)	24 (6.3)	
Tumor implant in the axilla				<0.01			<0.01			<0.01
Present	109	24 (6.3)	85 (22.3)		36 (9.4)	73 (19.2)		31 (8.1)	78 (20.5)	
Absent	272	141 (37.0)	131 (34.4)		150 (39.4)	122 (32.0)		159 (41.7)	113 (29.7)	
Axillary neoplastic emboli				0.36			0.56			0.86
Present	104	41 (10.8)	63 (16.5)		48 (12.6)	56 (14.7)		51 (13.4)	53 (13.9)	
Absent	277	124 (32.5)	153 (40.2)		138 (36.2)	139 (36.5)		139 (36.5)	138 (36.2)	
ER				0.46			0.96			0.49
Positive	201	91 (23.9)	110 (28.9)		99 (26.0)	102 (26.8)		106 (27.8)	95 (24.9)	
Negative	95	36 (9.4)	59 (15.5)		45 (11.8)	50 (13.1)		44 (11.5)	51 (13.4)	
Missing****	85	38 (10.0)	47 (12.3)		42 (11.0)	43 (11.3)		40 (10.5)	45 (11.8)	
PR				0.73			0.62			0.49
Positive	169	76 (19.9)	93 (24.4)		87 (22.8)	82 (21.5)		90 (23.6)	79 (20.7)	
Negative	107	43 (11.3)	64 (16.8)		51 (13.4)	56 (14.7)		51 (13.4)	56 (14.7)	
Missing****	105	46 (12.1)	59 (15.5)		48 (12.6)	57 (15.0)		49 (12.9)	56 (14.7)	
Recurrence				0.07			0.04			0.01
Present	151	56 (14.7)	95 (24.9)		64 (16.8)	87 (22.8)		63 (16.5)	88 (23.1)	
Absent	230	109 (28.6)	121 (31.8)		122 (32.0)	108 (28.4)		127 (33.3)	103 (27.1)	
Type of recurrence	151			0.83			0.91			0.18
(100%)										

Parameter	N	PECE		P value		TECE		P value		AECE		P value	
		< 1.9mm (N = 165) N (%)	≥ 1.9mm (N = 216) N (%)	< 2.5mm (N = 186) N (%)	≥ 2.5mm (N = 195) N (%)	< 4.5mm ² (N = 190) N (%)	≥ 4.5mm ² (N = 191) N (%)						
	381												
	(100%)												
Local	22	7 (4.6)	15 (9.9)	10 (6.6)	12 (8.0)	10 (6.6)	12 (8.0)	10 (6.6)	12 (8.0)				
Distant	91	35 (23.2)	56 (37.1)	39 (25.9)	52 (34.4)	42 (27.8)	49 (32.4)	42 (27.8)	49 (32.4)				
Local + distant	38	14 (9.3)	24 (15.9)	15 (9.9)	23 (15.2)	11 (7.3)	27 (17.9)	11 (7.3)	27 (17.9)				

Abbreviations: PECE, Perpendicular extent of extracapsular extension; TECE, Transversal extent of extracapsular extension; AECE, Area of extracapsular extension; IDC-NST, Invasive ductal carcinoma of no special type; LNs, Lymph nodes; ALND, Axillary lymph node dissection; ECE, Extracapsular extension; ER, Estrogen Receptor; PR, Progesterone receptor.

*Cases for which information regarding menopausal status, family history, tumor size and/or pathologic TNM stage could not be retrieved.

**Cases for which information regarding histologic grade and type could not be retrieved and slides and/or paraffin blocks were not available to review.

***Patients who were diagnosed with ductal carcinoma in situ and axillary metastases but no invasive cancer was found in the specimen(s) examined.

****Patients with no immunohistochemistry results available in their medical records.

Supplementary Table 2 – Association of the size and area of ECE with clinicopathologic criteria and outcome, after excluding patients

who received neoadjuvant therapy

Parameter	N	PECE N = 256		P value	TECE N = 256		P value	AECE N = 256		P value
		< 2mm (N = 135) N (%)	≥ 2mm (N = 121) N (%)		< 2mm (N = 88) N (%)	≥ 2mm (N = 168) N (%)		< 4mm ² (N = 126) N (%)	≥ 4mm ² (N = 130) N (%)	
Age										
< 35 years	12	8 (3.1)	4 (1.6)	0.46	6 (2.3)	6 (2.3)	0.50	9 (3.5)	3 (1.2)	0.13
35 - 50 years	106	58 (22.7)	48 (18.8)		36 (14.1)	70 (27.3)		54 (21.1)	52 (20.3)	
> 50 years	138	69 (26.9)	69 (26.9)		46 (18.0)	92 (36.0)		63 (24.6)	75 (29.3)	
Menopause				0.02			0.99			0.26
Yes	103	59 (23.1)	44 (17.2)		35 (13.6)	68 (26.6)		57 (22.2)	46 (18.0)	
No	143	67 (26.1)	76 (29.7)		49 (19.2)	94 (36.7)		64 (25.0)	79 (30.8)	
Missing*	10	9 (3.5)	1 (0.4)		4 (1.6)	6 (2.3)		5 (2.0)	5 (2.0)	
Family history				0.66			0.91			0.96
Positive	86	46 (18.0)	40 (15.7)		31 (12.1)	55 (21.5)		42 (16.4)	44 (17.2)	
Negative	139	75 (29.3)	64 (25.0)		47 (18.3)	92 (36.0)		68 (26.6)	71 (27.7)	
Missing*	31	14 (5.4)	17 (6.6)		10 (3.9)	21 (8.2)		16 (6.2)	15 (5.9)	
Tumor size				0.75			0.12			0.47
≤ 2cm	46	22 (8.6)	24 (9.4)		13 (5.1)	33 (12.9)		21 (8.2)	25 (9.7)	
2cm - 5cm	149	80 (31.2)	69 (27.0)		59 (23.0)	90 (35.1)		78 (30.5)	71 (27.7)	
> 5 cm	57	31 (12.1)	26 (10.1)		15 (5.9)	42 (16.4)		25 (9.8)	32 (12.5)	
Missing*	4	2 (0.8)	2 (0.8)		1 (0.4)	3 (1.2)		2 (0.8)	2 (0.8)	
Histologic grade				0.19			0.96			0.76
Grade 1	33	22 (8.6)	11 (4.3)		12 (4.7)	21 (8.2)		18 (7.0)	15 (5.9)	

Parameter	N	PECE N = 256		P value	TECE N = 256		P value	AECE N = 256		P value
		< 2mm (N = 135)	≥ 2mm (N = 121)		< 2mm (N = 88)	≥ 2mm (N = 168)		< 4mm ² (N = 126)	≥ 4mm ² (N = 130)	
		N (%)	N (%)		N (%)	N (%)		N (%)	N (%)	
256 (100%)										
Grade 2	116	57 (22.3)	59 (23.0)	39 (15.2)	77 (30.1)	55 (21.5)	61 (23.8)			
Grade 3	105	54 (21.1)	51 (19.9)	35 (13.7)	70 (27.3)	51 (19.9)	54 (21.1)			
Missing**	2	2 (0.8)	0 (0)	2 (0.8)	0 (0)	2 (0.8)	0 (0)			
Histologic type										
IDC-NST	173	94 (36.7)	79 (30.9)	56 (21.9)	117 (45.7)	84 (32.8)	89 (34.8)			0.33
Invasive breast carcinoma of mixed type	46	24 (9.3)	22 (8.6)	19 (7.4)	27 (10.6)	26 (10.1)	20 (7.8)			
Invasive breast carcinoma of special type	35	15 (5.9)	20 (7.8)	11 (4.3)	24 (9.3)	14 (5.5)	21 (8.2)			
Missing**	2	2 (0.8)	0 (0.0)	2 (0.8)	0 (0.0)	2 (0.8)	0 (0.0)			0.10
Pathologic TNM stage										
Stage 0***	2	1 (0.4)	1 (0.4)	1 (0.4)	1 (0.4)	1 (0.4)	1 (0.4)			
Stage I	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)			
Stage II	70	41 (16.0)	29 (11.3)	31 (12.1)	39 (15.2)	41 (16.0)	29 (11.3)			
Stage III	180	92 (36.0)	88 (34.3)	55 (21.5)	125 (48.8)	83 (32.4)	97 (37.9)			
Stage IV	2	0 (0.0)	2 (0.8)	0 (0.0)	2 (0.8)	0 (0.0)	2 (0.8)			
Missing*	2	2 (0.8)	0 (0.0)	1 (0.4)	1 (0.4)	1 (0.4)	1 (0.4)			<0.01
Positive LNs at ALND										
≤ 3	86	53 (20.7)	33 (12.9)	40 (15.7)	46 (18.0)	53 (20.7)	33 (12.9)			
4 - 9	89	53 (20.7)	36 (14.1)	36 (14.0)	53 (20.7)	50 (19.5)	39 (15.2)			
≥ 10	81	29 (11.3)	52 (20.3)	12 (4.7)	69 (26.9)	23 (9.0)	58 (22.7)			

Parameter	N	PECE N = 256		P value	TECE N = 256		P value	AECE N = 256		P value
		< 2mm (N = 135) N (%)	≥ 2mm (N = 121) N (%)		< 2mm (N = 88) N (%)	≥ 2mm (N = 168) N (%)		< 4mm ² (N = 126) N (%)	≥ 4mm ² (N = 130) N (%)	
256 (100%)										
Number of ECE foci at										
ALND										
≤ 3	191	117 (45.7)	74 (28.9)	<0.01	76 (29.7)	115 (44.9)	<0.01	109 (42.6)	82 (32.0)	<0.01
4 - 9	57	17 (6.7)	40 (15.6)		11 (4.3)	46 (18.0)		16 (6.3)	41 (16.0)	
≥ 10	8	1 (0.4)	7 (2.7)		1 (0.4)	7 (2.7)		1 (0.4)	7 (2.7)	
Tumor implant in the axilla										
Present	53	15 (5.9)	38 (14.8)	<0.01	9 (3.5)	44 (17.2)	<0.01	11 (4.3)	42 (16.4)	<0.01
Absent	203	120 (46.9)	83 (32.4)		79 (30.9)	124 (48.4)		115 (44.9)	88 (34.4)	
Axillary neoplastic emboli										
Present	63	31 (12.1)	32 (12.5)	0.54	17 (6.7)	46 (18.0)	0.16	29 (11.3)	34 (13.3)	0.58
Absent	193	104 (40.6)	89 (34.8)		71 (27.7)	122 (47.6)		97 (37.9)	96 (37.5)	
ER										
Positive	137	74 (28.9)	63 (24.6)	0.20	51 (19.9)	86 (33.6)	0.58	70 (27.4)	67 (26.2)	0.80
Negative	58	25 (9.8)	33 (12.9)		18 (7.0)	40 (15.7)		27 (10.5)	31 (12.1)	
Missing****	61	36 (14.0)	25 (9.8)		19 (7.4)	42 (16.4)		29 (11.3)	32 (12.5)	
PR										
Positive	121	64 (25.0)	57 (22.3)	0.36	43 (16.8)	78 (30.5)	0.92	62 (24.2)	59 (23.0)	0.78
Negative	61	28 (10.9)	33 (12.9)		21 (8.2)	40 (15.6)		28 (11.0)	33 (12.9)	
Missing****	74	43 (16.8)	31 (12.1)		24 (9.4)	50 (19.5)		36 (14.1)	38 (14.8)	
Recurrence										
Present	72	36 (14.1)	36 (14.1)	0.58	20 (7.8)	52 (20.3)	0.16	31 (12.1)	41 (16.0)	0.21
Absent	184	99 (38.7)	85 (33.2)		68 (26.6)	116 (45.3)		95 (37.1)	89 (34.8)	

Parameter	N	PECE N = 256		P value	TECE N = 256		P value	AECE N = 256		P value
		< 2mm (N = 135) N (%)	≥ 2mm (N = 121) N (%)		< 2mm (N = 88) N (%)	≥ 2mm (N = 168) N (%)		< 4mm ² (N = 126) N (%)	≥ 4mm ² (N = 130) N (%)	
Type of recurrence	72 (100%)			0.68			0.92			0.42
Local	12	5 (7.0)	7 (9.7)		3 (4.1)	9 (12.5)		5 (7.0)	7 (9.7)	
Distant	46	24 (33.3)	22 (30.6)		13 (18.1)	33 (45.8)		22 (30.6)	24 (33.3)	
Local + distant	14	7 (9.7)	7 (9.7)		4 (5.6)	10 (13.9)		4 (5.6)	10 (13.9)	

Abbreviations: PECE, Perpendicular extent of extracapsular extension; TECE, Transversal extent of extracapsular extension; AECE, Area of extracapsular extension; IDC-NST, Invasive ductal carcinoma of no special type; LNs, Lymph nodes; ALND, Axillary lymph node dissection; ECE, Extracapsular extension; ER, Estrogen Receptor; PR, Progesterone receptor.

*Cases for which information regarding menopausal status, family history, tumor size and/or pathologic TNM stage could not be retrieved.

**Cases for which information regarding histologic grade and type could not be retrieved and slides and/or paraffin blocks were not available to review.

***Patients who were diagnosed with ductal carcinoma in situ and axillary metastases but no invasive cancer was found in the specimen(s) examined.

****Patients with no immunohistochemistry results available in their medical records.

Supplementary Table 3 – Multivariate analysis for disease free survival (DFS) using the Cox proportional hazard model, after excluding patients who received neoadjuvant therapy

	Adjustment of Covariates* Multivariate Analysis for OS					
	HR	P value	95% CI	HR	P value	95% CI
Age						
< 35 years	1	-	-	-	-	-
35 - 50 years	1.53	0.68	0.20 – 11.7	-	-	-
> 50 years	1.70	0.60	0.22 – 12.8	-	-	-
Menopause						
Yes	0.93	0.85	0.45 – 1.91	-	-	-
No	1	-	-	-	-	-
Family history						
Positive	1.1	0.79	0.51 – 2.38	-	-	-
Negative	1	-	-	-	-	-
Tumor size						
≤ 2cm	1	-	-	-	-	-
2cm - 5cm	1.73	0.31	0.59 - 5.04	-	-	-
> 5cm	1.96	0.29	0.55 – 6.95	-	-	-
Histologic grade						
Grade 1	1	-	-	-	-	-

Grade 2	1.17	0.76	0.41 – 3.34	-	-	-
Grade 3	1.55	0.39	0.55 – 4.33	-	-	-
Histologic type						
IDC-NST	1	-	-	-	-	-
Invasive breast carcinoma of mixed type	1.37	0.49	0.55 – 3.43	-	-	-
Invasive breast carcinoma of special type	0.70	0.48	0.26 – 1.88	-	-	-
Pathologic TNM stage						
Stage 0**	1	-	-	-	-	-
Stage I	-	-	-	-	-	-
Stage II	0.24	0.18	0.03 – 1.95	-	-	-
Stage III	0.49	0.49	0.06 – 3.74	-	-	-
Stage IV	0.00	0.97	0.00 – 0.00	-	-	-
Positive LNs at ALND at ALND						
≤ 3	1	-	-	-	-	-
4 - 9	1.72	0.19	0.75 – 3.93	-	-	-
> 10	1.90	0.15	0.78 – 4.59	-	-	-
Number of ECE foci at ALND						
≤ 3	1	-	-	-	-	-
4 - 9	1.99	0.13	0.80 – 4.94	-	-	-
> 10	2.61	0.36	0.33 – 20.34	-	-	-
PECE						
<2mm	1	-	-	-	-	-
≥2mm	0.77	0.57	0.31 – 1.90	-	-	-
PECE (Median)						
<1.9mm	1	-	-	-	-	-
≥1.9mm	0.91	0.83	0.37 – 2.18	-	-	-

≤ 2cm	1	-	-	-	-	-	-	-	-
2cm - 5cm	1.29	0.35	0.74 - 2.23	0.95	0.41	0.47 - 1.91			
> 5cm	2.27	0.01	1.21 - 4.25	1.74	0.16	0.79 - 3.81			
Histologic grade									
Grade 1	1	-	-	-	-	-			
Grade 2	1.12	0.69	0.63 - 1.97	-	-	-			
Grade 3	1.44	0.19	0.82 - 2.51	-	-	-			
Histologic type									
IDC-NST	1	-	-	-	-	-			
Invasive breast carcinoma of mixed type	1.07	0.78	0.62 - 1.85	-	-	-			
Invasive breast carcinoma of special type	0.75	0.28	0.45 - 1.26	-	-	-			
Pathologic TNM stage									
Stage 0**	1	-	-	-	-	-			
Stage I	-	-	-	-	-	-			
Stage II	0.76	0.79	0.10 - 5.66	-	-	-			
Stage III	1.91	0.51	0.26 - 13.8	-	-	-			
Stage IV	4.08	0.25	0.36 - 45.2	-	-	-			
Positive LNs at ALND									
≤3	1	-	-	-	-	-			
4 - 9	2.35	< 0.01	1.47 - 3.75	2.14	0.02	1.10 - 4.16			
> 10	3.00	< 0.01	1.88 - 4.77	2.00	0.07	0.92 - 4.34			
Number of ECE foci at ALND									
≤3	1	-	-	-	-	-			
4 - 9	1.48	0.15	0.86 - 2.54	1.01	0.96	0.51 - 2.01			
> 10	4.97	< 0.01	2.09 - 11.8	2.18	0.13	0.77 - 6.15			
PECE									
<2mm	1	-	-	-	-	-			

≥2mm	1.19	0.44	0.75 – 1.90	-	-	-
PECE (Median)						
<1.9mm	1	-	-	-	-	-
≥1.9mm	1.25	0.34	0.78 – 2.01	-	-	-
TECE						
<2mm	1	-	-	-	-	-
≥2mm	1.69	0.04	1.00 – 2.84	1.31	0.43	0.66 – 2.62
TECE (Median)						
<2.5mm	1	-	-	-	-	-
≥2.5mm	1.47	0.10	0.92 – 2.35	-	-	-
AECE						
<4mm ²	1	-	-	-	-	-
≥4mm ²	1.47	0.10	0.92 – 2.36	-	-	-
AECE (Median)						
<4.5mm ²	1	-	-	-	-	-
≥ 4.5mm ²	1.59	0.05	0.99 – 2.54	1.05	0.86	0.55 – 2.01
Tumor implants in the axilla	1.91	<0.01	1.17 – 3.12	1.05	0.86	0.56 – 1.97
Axillary neoplastic emboli	2.19	<0.01	1.40 – 3.40	1.03	0.90	0.58 – 1.82

Abbreviations: OS, Overall survival; HR, Hazard Ratio; CI, Confidence Interval; LNs, Lymph nodes; ALND, Axillary lymph node dissection; ECE, Extracapsular extension; PECE, Perpendicular extent of extracapsular extension; TECE, Transversal extent of extracapsular extension; AECE, Area of extracapsular extension; DFS, Disease-free survival.

*Only variables with a P-value < 0.10 were selected for the final Cox regression analysis model.

**Patients who were diagnosed with ductal carcinoma in situ and axillary metastases but no invasive cancer was found in the specimen(s) examined.

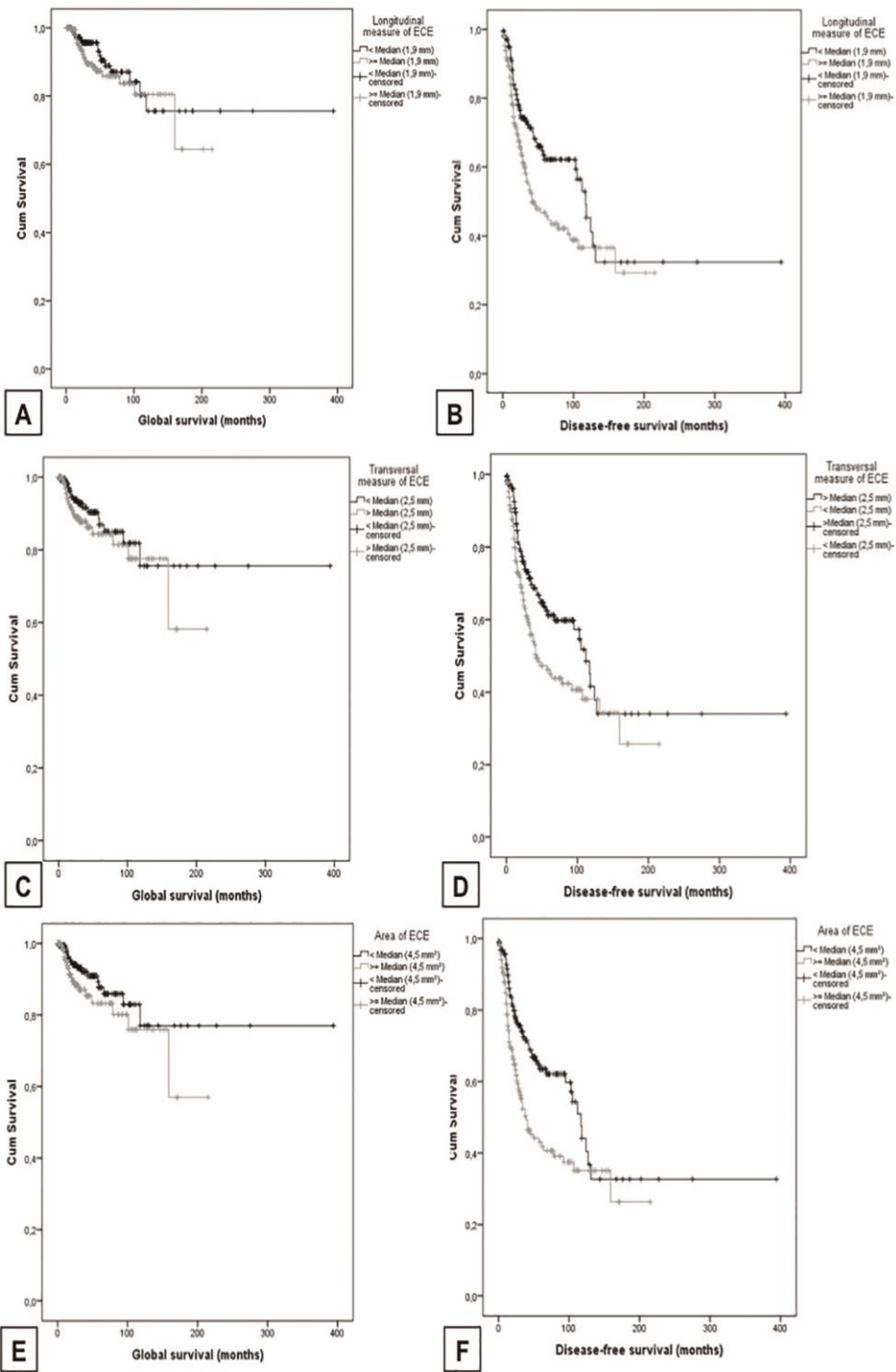
SUPPLEMENTARY FIGURES

Supplementary Figure 1 – Survival analysis showing significant associations between the median value of longitudinal perpendicular extent (PECE), median value of transversal extent (TECE) and median values of area (AECE) of extracapsular extension and disease free survival (DFS), but not with overall survival (OS) using Kaplan-Meier survival curves

(A) and (B) Relationship between PECE, overall survival ($p=0.34$) and disease-free interval ($p=0.01$)

(C) and (D) Relationship between TECE, overall survival ($p=0.30$) and disease-free interval ($p<0.01$)

(E) and (F) Relationship between AECE, overall survival ($p=0.24$) and disease-free interval ($p<0.01$)



2 - RESULTADOS ADICIONAIS

Para avaliar se haveria pontos de corte para as medidas/área da extensão extracapsular mais acurados que o valor arbitrário de 2mm ou a mediana encontrada em nossa amostra, prosseguimos nossa investigação usando o método das curvas ROC (*Receiver Operator Characteristic*) para PEEC, TEEC e AEEC. Através desta metodologia, seria possível detectar novos valores de referência para as dimensões de EEC, com sensibilidade e especificidade mais elevadas para identificar pacientes com maiores riscos de recidiva da doença e morte.

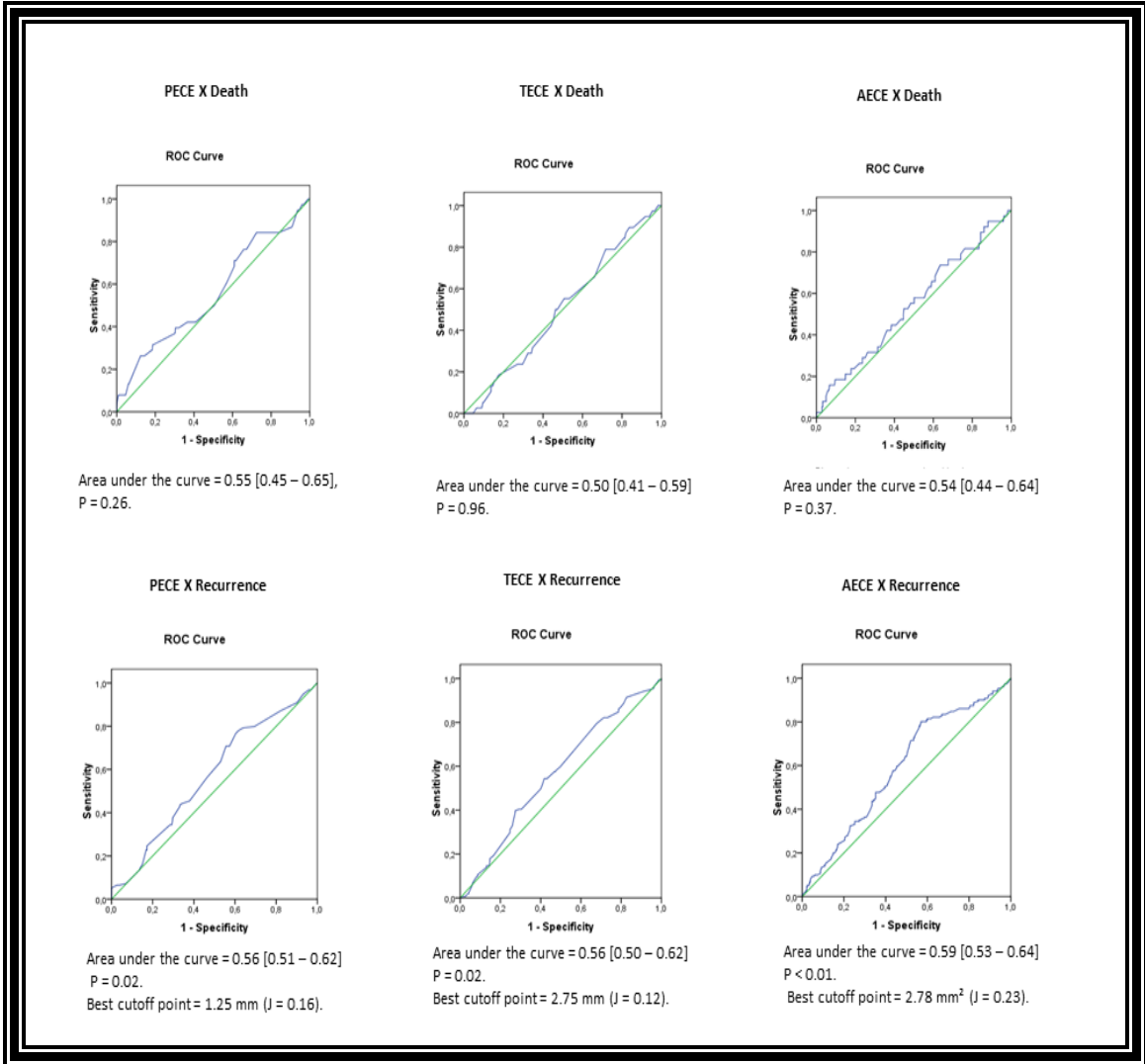
Em relação à sobrevida global, as curvas ROC para PEEC, TEEC e AEEC não atingiram relevância estatística e, portanto, o valor de corte não pôde ser calculado. Quanto à sobrevida livre de doença, as curvas ROC para PEEC, TEEC e AEEC foram estatisticamente significativas e verificou-se que o ponto de corte com maior sensibilidade e especificidade combinada para prever recidiva do câncer seria de 1,25mm para PEEC, 2,75mm para TEEC e 2,8mm² para AEEC. Tais achados estão ilustrados na Figura 2.

FIGURA 2 – Curvas ROC (*Receiver Operator Characteristic*) indicando novos pontos de corte em potencial para PEEC, TEEC e AEEC com a maior sensibilidade e especificidade combinadas para prever recidiva do câncer de mama e mortalidade:

(A) e (B) Curvas ROC para PEEC: sobrevida global ($p=0,26$) e sobrevida livre de doença ($p=0,02$)

(C) e (D) Curvas ROC para TEEC: sobrevida global ($p=0,96$) e sobrevida livre de doença ($p=0,02$)

(E) e (F) Curvas ROC para AEEC: sobrevida global ($p=0,37$) e sobrevida livre de doença ($p<0,01$)



CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo, examinamos o papel prognóstico da medida da extensão extracapsular (EEC) em pacientes diagnosticados com câncer de mama e linfonodos axilares metastáticos. Nossa pesquisa em arquivos médicos identificou 1.238 casos de câncer de mama linfonodopositivo, no entanto 632 foram excluídos por indisponibilidade de informações clínicas, anatomopatológicas e/ou de materiais (blocos e/ou lâminas) para revisão histopatológica, resultando em uma série de 605 pacientes. Entre estes, 393/605 (65%) tinham EEC, quer nos linfonodos sentinela e/ou não-sentinela. Determinamos o tamanho da EEC em duas dimensões, PEEC e AEEC, além disso, avaliamos AEEC, número de focos de EEC na biópsia de LNS e/ou de esvaziamento axilar, presença de implantes tumorais e êmbolos neoplásicos na axila. As medidas e a área da EEC foram significativamente associadas com várias características clínicas, anatomopatológicas e sobrevida. Achados semelhantes foram observados quanto ao número de focos da EEC, presença de implantes axilares tumorais e êmbolos neoplásicos no tecido adiposo perinodal.

Reconhecemos as limitações deste trabalho por tratar-se de um estudo retrospectivo, avaliando uma coorte heterogênea de pacientes. Entretanto, há que se ressaltar seus pontos fortes: incluímos uma amostra grande de pacientes consecutivamente diagnosticados e tratados em nossa instituição; revisão histopatológica centralizada de todos os tumores primários, metástases linfonodais, presença e tamanho do extravasamento extracapsular; avaliação do extravasamento extracapsular em duas dimensões e área; utilização do ponto de corte arbitrário previamente descrito na literatura, mas também emprego de um novo valor de referência com base nas medianas do tamanho e área da extensão extracapsular obtidas na nossa amostra; análise multivariada com ajuste para todas as variáveis clinicopatológicas e de tratamento.

Vale salientar ainda que mesmo após excluirmos os pacientes que foram submetidos a alguma terapia neoadjuvante, visto que a neodjuvância pode alterar a carga tumoral axilar final, a grande maioria dos nossos resultados foi semelhante aos resultados obtidos na análise total da amostra.

Por fim, em conjunto com outros estudos contemporâneos, nossos resultados indicam que informações acerca das medidas da EEC devem estar presentes nos laudos anatomopatológicos de carcinomas mamários invasores. Trabalhos futuros com seguimento

clínico de longo prazo, além de debate constante entre patologistas, são necessários para que o método de aferição do tamanho da EEC seja uniforme, para a determinação do ponto de corte mais acurado na identificação dos pacientes com pior prognóstico e para que este valor de referência seja padronizado.

Futuramente, pretendemos avaliar a aplicação e utilidade prognóstica dos valores de corte encontrados nas curvas ROC em nossa série de pacientes e em outras populações.

CONCLUSÕES

- 1 - Confirmou-se nesta vasta série de pacientes, referente a um período de aproximadamente 24 anos, que a presença de extensão extracapsular em linfonodos axilares metastáticos é um achado frequente (65% dos casos) no câncer de mama, estando associado a piores taxas de sobrevida global e sobrevida livre de doença.
- 2 - Em pacientes diagnosticados com câncer de mama linfonodo-positivo, verificou-se associação das medidas perpendicular/longitudinal e transversal da extensão extracapsular $\geq 2\text{mm}$, bem como da área $\geq 4\text{mm}^2$, com características tumorais de comportamento biológico mais agressivo, maior carga nodal axilar, maiores taxas de recidiva e pior sobrevida livre de doença. O emprego dos valores das medianas de PEEC, TEEC e AEEC encontrados em nossa amostra, ao invés do ponto de corte arbitrário de 2mm/4mm², não afetou significativamente os resultados obtidos. Por conseguinte, nossos achados indicam que as medianas não seriam valores de referências mais acurados que o ponto de corte arbitrariamente estabelecido para a identificação de pacientes com prognóstico desfavorável.
- 3 - Houve correlação entre o número de focos de extensão extracapsular em linfonodos axilares positivos para câncer de mama e características tumorais de comportamento biológico mais agressivo, estadiamento mais avançado da doença ao diagnóstico inicial, presença de implantes tumorais e de êmbolos neoplásicos no tecido adiposo perinodal e maiores taxas de recorrência.
- 4 - Identificaram-se êmbolos neoplásicos em vasos sanguíneos/linfáticos axilares em aproximadamente 20,5% dos pacientes, além de implantes tumorais no tecido adiposo axilar em cerca de 40% dos pacientes com câncer de mama linfonodo-positivo.
- 5 - Foi observada associação entre a presença de êmbolos neoplásicos e implantes tumorais no tecido adiposo axilar com fenótipo tumoral mais agressivo, maiores taxas de recidiva e piores taxas de sobrevida global e sobrevida livre de doença.
- 6 - A presença de extensão extracapsular em linfonodos sentinela metastáticos para câncer de mama, bem como a medida perpendicular de EEC $\geq 2\text{mm}$, foram fatores preditores da presença de metástases em linfonodos não-sentinela do esvaziamento axilar complementar.

7 - Quanto a novos pontos de corte em potencial para as medidas e área de extravasamento extracapsular, pode-se afirmar que $PEEC \geq 1,25\text{mm}$, $TEEC \geq 2,75\text{mm}$ e $AEEC \geq 2,80\text{mm}^2$ seriam os valores de referência de maiores especificidade e sensibilidade combinadas na identificação de pacientes com câncer de mama linfonodo-positivo e pior prognóstico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDESSALAM SF, ZERVOS EE, PRASAD M *et al.* Predictors of positive axillary lymph nodes after sentinel lymph node biopsy in breast cancer. **Am. J. Surg.**, v.182, n. 4, p.316–320, Oct. 2001.
2. ABDULKAREEM IH. Aethio-pathogenesis of breast cancer. **Niger Med J.** v.54, n.6, p.371-5, Nov-Dec 2013.
3. AJCC Cancer Staging Manual Seventh Edition. New York, NY: Springer, 2010.
4. ALLRED DC, HARVEY JM, BERNARDO M *et al.* Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. **Mod. Pathol.**, v.11, n.2, p.155-68, Feb.1998.
5. ALTINYOLLAR H, BERBEROGLU U, GULBEN K *et al.* The correlation of extranodal invasion with other prognostic parameters in lymph node positive breast cancer. **J. Surg. Oncol.** v.95, n.7, p.567-571, Jun. 2007.
6. BLOOM, H. J. G.; RICHARDSON, W. W. Histologic grading and prognosis in breast cancer. **Br. J. Cancer**, n.9, p.359–377, Jul. 1957.
7. BUCCI JA, KENNEDY CW, BURN J *et al.* Implications of extranodal spread in node positive breast cancer: a review of survival and local recurrence. **Breast.** v10, n.3, p.213-219, Jun. 2001.
8. CIANFROCCA M, GOLDSTEIN LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. **The Oncologist.** v.9, n.6, p.606-616, 2004.
9. CHOI AH, BLOUNT S, PEREZ MN *et al.* Size of extranodal extension on sentinel lymph node dissection in the American College of Surgeons Oncology Group Z0011 Trial Era. **JAMA Surg.** v.150, n.12, p.1141-1148, 2015.
10. ELLIS IO, ELSTON C W. Histologic grade (chapter 19). In: O'Malley FP, Pinder SE, editors. *Breast Pathology*. Philadelphia, PA: Elsevier, 2006. p. 225-233.
11. ELSTON CW, ELLIS IO. *The Breast*. 3th.ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1998.

10. ESPOSITO A, CRISCITIELLO C, CURIGLIANO G. Highlights from the 14(th) St Gallen International Breast Cancer Conference 2015 in Vienna: Dealing with classification, prognostication, and prediction refinement to personalize the treatment of patients with early breast cancer. **Ecancermedicalsecience**. v.9. p.518, 2015.
11. FITZGIBBONS PL, PAGE DL, WEAVER D *et al*. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. **Arch Pathol Lab. Med**. v.124, n.7, p.966-978, Jul. 2000.
12. FUJII T, YANAGITA Y, FUJISAWA T *et al*. Implication of extracapsular invasion of sentinel lymph nodes in breast cancer: prediction of nonsentinel lymph node metastasis. **World J Surg**.v.4, n.3, p.544-548, Mar. 2010.
13. GENG W, ZHANG B, LI D *et al*. The effects of ECE on the benefits of PMRT for breast cancer patients with positive axillary nodes. **J Radiat Res**.v.54, n.4, p.712-8, Jul. 2013.
14. GIULIANO AE, MCCALL L, BEITSCH P *et al*. Locoregional recurrence after sentinel lymph node dissection with or without axillary dissection in patients with sentinel lymph node metastases: the American College of Surgeons Oncology Group Z0011 randomized trial. **Ann Surg**. v.252, n.3, p.426-32, Sep. 2010.
15. GOBBI H, ROCHA RM, NUNES CB. Predictive factors of breast cancer evaluated by immunohistochemistry. **J Bras Pathol Med Lab**. v.44, n.2, p.131-140, Apr. 2008.
16. GOLDBIRSCHE A, GLICK JH, GELBER RD *et al*. Meeting highlights: International expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. **Ann Oncol**. v.16, n.9, p.1569-1583, 2005.
17. GOOCH J, KING TA, EATON A *et al*. The extent of extracapsular extension may influence the need for axillary lymph node dissection in patients with T1–T2 breast cancer. **Ann Surg Oncol**. v.;21, n.9, p.2897-2903, Sep. 2014.
18. GRUBER G, COLE BF, CASTIGLIONE-GERTSCH M *et al*. Extracapsular tumor spread and the risk of local, axillary and supraclavicular recurrence in node-positive, premenopausal patients with breast cancer. **Ann Oncol**. v.19, n.8, p.1393–1401, Aug. 2008.
19. Instituto Nacional do Câncer, 2016. Disponível em www.inca.gov.br.

20. KATZ A, STROM EA, BUCHHOLZ TA *et al.* Locoregional recurrence patterns after mastectomy and doxorubicin-based chemotherapy: implications for postoperative irradiation. **J Clin Oncol.** v.8, n.15, 2817-2827, Aug. 2000.
21. LAKHANI SR, ELLIS, IO, SCHNITT, SJ, TAN, PH, van de VIJVER, MJ. WHO Classification of Tumors of the Breast. 4th edition. 2012.
22. LYU N, YANG Z, LIU X, NIU Y. Lymph node status in different molecular subtype of breast cancer: triple negative tumours are more likely lymph node negative. **Oncotarget.** doi: 10.18632/oncotarget.15022. Feb. 2017.
23. NOTTEGAR A, VERONESE N, SENTHIL M *et al.* Extra-nodal extension of sentinel lymph node metastasis is a marker of poor prognosis in breast cancer patients: A systematic review and an exploratory meta-analysis. **Eur J Surg Oncol.** v.42, n.7, p.919-925, Jul. 2016.
24. PAGE DL, JENSEN RA, SIMPSON JF. Premalignant and malignant disease of the breast: the roles of the pathologist. **Mod Pathol.** v.11, n.2, p.1201-128, Feb. 1998.
25. PALAMBA HW, ROMBOUITS MC, RUERS Th JM *et al.* Extranodal extension of axillary metastasis of invasive breast carcinoma as a possible predictor for the total number of positive lymph nodes. **Eur J Surg Oncol.** v.27, n.8, p.719-722, Dec. 2001
26. TURNER RR, CHU KU, QI K *et al.* Pathologic features associated with nonsentinel lymph node metastases in patients with metastatic breast carcinoma in a sentinel lymph node. **Cancer.** v.89, p.574-581, Aug. 2000.
27. WALLGREN A, BONETTI M, GELBER RD *et al.* Risk factors for locoregional recurrence among breast cancer patients: results from international breast cancer study group trials I through VII. **J Clin Oncol** v.21, p.205-1213, Apr. 2003.
28. YEH ML, LEE TY. A Prospective Study of the Relationship between Psychological Factors and Breast Cancer. **Asia Pac J Oncol Nurs.** v.3, n.2, 170-5, Apr-Jun 2016.

ANEXOS

ANEXO 1 - PRODUÇÃO CIENTÍFICA RELACIONADA À DISSERTAÇÃO

1 - APRESENTAÇÃO EM EVENTOS

1.1 - O resumo do trabalho foi selecionado para apresentação oral no Encontro Anual da United States and Canadian Academy of Pathology (USCAP), que acontecerá no período de 4 a 10 de março de 2017, em San Antonio, Texas, EUA.

1.2 - O trabalho foi apresentado XXV Semana de Iniciação Científica da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), parte da Semana de Conhecimento da UFMG, no período de 17 a 20 de outubro de 2016, no Campus Pampulha da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, tendo sido selecionado como um dos estudos de maior relevância acadêmica.

2 - PUBLICAÇÕES DE RESUMOS EM SUPLEMENTOS CIENTÍFICOS

2.1 - MATTA FIBCC, FIGUEIREDO CH, OLIVEIRA RFA, AZEVEDO PHR, DE BROT M. Prognostic Impact of the Size of Extracapsular Extension of Axillary Lymph Node Metastases in Breast Cancer: Association with Clinicopathological Features and Outcome. *Mod Pathol* 2017; 30(suppl):37a.

2.2 - MATTA FIBCC, FIGUEIREDO CH, OLIVEIRA RFA, AZEVEDO PHR, DE BROT M. Estudo do Impacto Prognóstico da Medida da Extensão Extracapsular de Linfonodos Axilares Metastáticos de Pacientes com Câncer de Mama: Associação com Parâmetros Clínico-patológicos e Evolução da Doença. <https://www.ufmg.br/semanadoconhecimento/pesquisa/>

3 - PUBLICAÇÕES DE ARTIGOS COMPLETOS EM PERIÓDICOS INTERNACIONAIS

3.1 - MATTA FIBCC, FIGUEIREDO CH, OLIVEIRA RFA, AZEVEDO PHR, DE BROT M. **Size of Extracapsular Extension in Axillary Lymph Node Metastasis as a**

Possible Predictor for Aggressive Tumor Phenotype, Nodal Tumor Burden and Worse Outcome in Node-Positive Breast Cancer Patients

Submetido ao periódico internacional *Modern Pathology*.

ANEXO 1.1.1: CARTA DE ACEITE DO TRABALHO COMO APRESENTAÇÃO ORAL
NO *USCAP ANNUAL MEETING* DE 2017

TO CONTACT PERSON: Francisca da Matta

FROM: David B. Kaminsky, MD, FIAC, Executive Vice-President
Laura W. Lamps, MD, Education Committee Chairman
Jason L. Hornick, MD, PhD, Chair, Abstract Review Board and Assignment Committee

Presenting Author: Francisca da Matta

Abstract Confirmation #: 2435
Abstract Publication #: 138

Title: Prognostic Impact of the Size of Extracapsular Extension of Axillary Lymph Node Metastases in Breast Cancer: Association with Clinicopathological Features and Outcome

Platform Presentation – BREAST
Section SECTION D at 1:15 pm on Monday

Congratulations! The above listed abstract has been accepted for presentation at the USCAP 106th Annual Meeting which will be held in San Antonio, TX, March 4-10, 2017. Your abstract is scheduled for platform presentation as shown above. **The Program Book for this meeting will be posted on the USCAP website by early February. Please check the website at that time to confirm the time and room location. The USCAP website address is (www.uscap.org). All presenters are required to pay the General Registration Fee for the meeting. All advanced meeting registration must be done online through the USCAP web site at - www.uscap.org.**

Please be aware that only electronic projection will be available for abstract platform presentations. In January you will receive an e-mail from someone at PSAV (the AV Company for this meeting) which will contain instructions on how to submit your presentation electronically. You may do this prior to the meeting, and you will have a chance to review it in the Speaker Preview Room at the meeting before your presentation. A professional projectionist will be available for AV assistance.

Paper presentations are ten minutes in duration with five additional minutes for questions. You are expected to adhere to this time limit and presentations which go beyond the allotted time will be ended by the moderators. Unless otherwise noted, all abstracts presented at the USCAP Annual Meeting are embargoed until the date and time of presentation.

Abstracts presented at a news conference are embargoed until the date and time of the news conference. The USCAP reserves the right to lift the embargo on specific abstracts that are selected for promotion prior to or during the USCAP Annual Meeting.

At the time of presentation, all speakers are expected to disclose to the audience any commercial or financial relationship(s) that may have a direct bearing on the subject of the presentation and which may be perceived as a real, or apparent, conflict of interest for the previous 12 months. This applies to the presenter as well as their spouse or partner. Speakers should also disclose any "off-label" use of investigational products prior to the presentation.

ANEXO 1.1.2: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO COMO DE MAIOR RELEVÂNCIA ACADÊMICA NA XXV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFMG



Semana
Conhecimento | UFMG
2016
Cultivar Vidas: Ciência e Sociedade

CERTIFICADO

CERTIFICAMOS QUE O TRABALHO INTITULADO "ESTUDO DO IMPACTO PROGNÓSTICO DA MEDIDA DA EXTENSÃO EXTRACAPSULAR EM LINFONODOS AXILARES METASTÁTICOS DE PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA: ASSOCIAÇÃO COM PARÂMETROS CLÍNICO-PATOLÓGICOS E EVOLUÇÃO DA DOENÇA", FOI APRESENTADO NA XXV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, PROMOVIDA PELA PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, NO PERÍODO DE 17-10-2016 A 21-10-2016, TENDO SIDO SELECIONADO COMO RELEVÂNCIA ACADÊMICA

AUTOR(A): CARLOS HENRIQUE DE FIGUEIREDO
ORIENTADOR(A): MARINA DE BROT ANDRADE DO(A) FACULDADE DE MEDICINA,
CO-AUTORES: FRANCISCA INDIRA COLAÇO COSTA BELTRÃO DA MATTA, PAULO HERNANE AZEVEDO,
RAFAEL FUSARO AGUIAR OLIVEIRA

Mônica Maria Diniz Leão
MÔNICA MARIA DINIZ LEÃO
PRÓ-REITORA ADJUNTA DE PESQUISA



realização: **UFMG**



ANEXO 1.2.1: REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA DA PUBLICAÇÃO DO RESUMO NO SUPLEMENTO CIENTÍFICO DA *MODERN PATHOLOGY* (RESUMO ACEITO NO *USCAP ANNUAL MEETING* DE 2017)

Francisca IBCC da Matta, Carlos H de Figueiredo, Rafael F Oliveira, Paulo H Azevedo, Marina De Brot. Prognostic Impact of the Size of Extracapsular Extension of Axillary Lymph Node Metastases in Breast Cancer: Association with Clinicopathological Features and Outcome (Abstract # 138)- Mod Pathol 30 (S2): 37A, 2017
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil.

Background: Extracapsular extension (ECE) of nodal metastasis is associated with a higher risk of mortality and disease recurrence in breast cancer (BC) patients (pts), while the size of ECE in the SLN has been correlated with nodal tumor burden at ALND. However, the prognostic value of the ECE extent remains unclear. Here we examine the association of the ECE size in axillary metastases with clinicopathological criteria and outcome in BC.

Design: Pts diagnosed with node-positive BC from 1994-2014 were selected at a single university hospital. Chart review documented clinicopathological data. Original H&E slides were re-evaluated to determine tumor histological type/grade, presence, size and area of ECE (largest size perpendicular to the node capsule, PECE; size measured transversely to the capsule, TECE; area, AECE). Comparisons were made by extent (<2 mm vs \geq 2 mm) and area of ECE.

Results: Our database quest identified 1,238 node-positive BC pts over a 20 year period and 632 were excluded because of missing follow-up, leaving 605 for evaluation (99% female, 1% male). Mean age at diagnosis was 54 yrs (28-90 yrs), median follow-up was 40 mos (1-394 mos), 35% of pts had developed a recurrence by the time of last follow-up and 9% died of the disease. Most tumors were classified as invasive ductal carcinoma (NST, 68%), mainly of grade 2 (43%) or 3 (42%), and the majority of pts was diagnosed at stage II (34%) or III (62%). Mean number of axillary nodes examined/patient was 18 (mean, positive nodes/patient=7) and ECE was observed in 393/605 (65%) cases. When ECE was present, pts had both shorter overall survival (OS) and disease-free survival (DFS; $p < 0.01$). Compared to PECE <2 mm, PECE \geq 2 mm was associated with the presence of >10 positive nodes at ALND, axillary tumor implants, high tumor grade, disease recurrence and poorer DFS ($p = 0.02$); whereas TECE \geq 2 mm was correlated with advanced stage, higher number of positive nodes, recurrence,

ANEXO 1.2.2: CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO NA XXV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFMG





Semana
Conhecimento | UFMG
2016
Cultivar Vidas: Ciência e Sociedade

CERTIFICADO

CERTIFICAMOS QUE O TRABALHO INTITULADO "ESTUDO DO IMPACTO PROGNÓSTICO DA MEDIDA DA EXTENSÃO EXTRACAPSULAR EM LINFONODOS AXILARES METASTÁTICOS DE PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA: ASSOCIAÇÃO COM PARÂMETROS CLÍNICO-PATOLÓGICOS E EVOLUÇÃO DA DOENÇA", FOI APRESENTADO NA XXV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, PROMOVIDA PELA PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, NO PERÍODO DE 17-10-2016 A 21-10-2016.

AUTOR(A): CARLOS HENRIQUE DE FIGUEIREDO
ORIENTADOR(A): MARINA DE BROT ANDRADE DO(A) FACULDADE DE MEDICINA.
CO-AUTORES: FRANCISCA INDIRA COLAÇO COSTA BELTRÃO DA MATTA, PAULO HERNANE AZEVEDO, RAFAEL FUSARO AGUIAR OLIVEIRA



Mônica Diniz Leão
MÔNICA MARIA DINIZ LEÃO
PRÓ-REITORA ADJUNTA DE PESQUISA





realização **UFMG**

ANEXO 1.3.1: COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO AO PERIÓDICO
MODERN PATHOLOGY

manuscripttrackingssystem MODERN PATHOLOGY

tracking system home | author instructions | reviewer instructions | ? help | tips | ✕ logout | journal home

Manuscript #	MP-2017-0123
Current Revision #	0
Submission Date	9th Feb 17 19:52:09
Current Stage	Under Review
Title	Size of Extracapsular Extension in Axillary Lymph Node Metastasis as a Possible Predictor for Aggressive Tumor Phenotype, Nodal Tumor Burden and Worse Outcome in Node-Positive Breast Cancer Patients
Running Title	ECE Size in Breast Cancer Lymph Node Metastasis
Manuscript Type	Original Article
Manuscript Comment	Reviewer to include: Helenice Gobbi, helenicegobbi@gmail.com; Fernando A. Soares, fasoares@icloud.com. Reviewers to exclude: Jorge S. Reis-Filho; Edi Brogi This manuscript is going to be presented at the 2017 USCAP Annual Meeting in San Antonio and it has been selected for Platform Presentation. The 1st author is a doctor and a Masters degree student.
Corresponding Author	Prof. Marina De Brot (debrot@gmail.com) (A.C. Camargo Cancer Center)
Contributing Authors	Dr. Francisca da Matta , Mr. Carlos de Figueiredo , Mr. Rafael Oliveira , Dr. Paulo Azevedo

ANEXO 2 - OUTROS ANEXOS

1 - FICHA DE COLETA DE DADOS

2 - APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS (COEP-UFMG)

ANEXO 2.1Nome:Idade:RG:BIO:Ano:Procedência:Sexo: F M ?Cor: B N P A I ?Lateralidade: D E DE ?Quadrante: QSL QSM QIL QIM UQMED UQLAT UQSUP UQINF MULTI RRA ?Data do diag. inicial:Data da cirurgia:Data da últ.consulta/óbito:TNM: Tis T0 T1 T2 T3 T4 Tx N0 N1 N2 N3 Nx M0 M1 Mx I =TipoHis:Subtipo hist.:

Grau: I II III / B I A

Tipo da amostra: EA LS OutraLN's dissecados:LN's positivos:Infiltração de cápsula: S N ?Extravasamento: S N ?LN's com Extravasamento:Medida do extravasamento:RE + () - ? RP + () - ? HER2 + () - ?Tipos de TTO: QT neo RT neo Ht neo QT RT HT ? Data da recidiva:Recidiva: L M N ?Tempo livre:

História familiar:

Menopausa: Pré Pós

Local da metástase:

Causa do óbito:

ANEXO 2.2



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

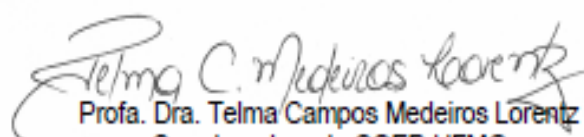
Projeto: CAAE – 39736714.9.0000.5149

Interessado(a): Profa. Marina De Brot Andrade
Departamento de Aparelho Locomotor
Faculdade de Medicina - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 06 de março de 2015, o projeto de pesquisa intitulado "Impacto prognóstico da medida da extensão extracapsular em linfonodos axilares metastáticos de pacientes com câncer de mama" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto através da Plataforma Brasil.


Prof. Dra. Telma Campos Medeiros Lorentz
Coordenadora do COEP-UFMG