



UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FACULDADE DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLÓGICA E MEDICINA LEGAL

Dissertação de Mestrado

FATORES DE RISCO PARA METÁSTASES EM LINFONODOS NÃO-SENTINELA EM PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA E LINFONODO SENTINELA POSITIVO

HENRIQUE SILVA BARTELS

BELO HORIZONTE

2010

HENRIQUE SILVA BARTELS

**FATORES DE RISCO PARA METÁSTASES EM LINFONODOS
NÃO-SENTINELA EM PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA
E LINFONODO SENTINELA POSITIVO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina.

Área de concentração: Patologia Médica

Orientação: Profa. Dra. Helenice Gobbi

Co-orientação: Profa. Dra. Vanessa Fortes Zschaber
Marinho

BELO HORIZONTE
FACULDADE DE MEDICINA DA UFMG
2010

APOIO FINANCEIRO: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

“Mestre não é quem sempre ensina, mas quem de repente aprende.”

João Guimarães Rosa

Para minha querida mãe Maria Simões.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, mentora e amiga, Profa. Helenice Gobbi, que além do vasto conhecimento, carrega muita sabedoria e uma capacidade inigualável de agregar pessoas. Agradeço pela generosidade em compartilhar seu conhecimento, pelos ensinamentos profissionais e de vida, pelo incentivo e sobretudo pela confiança em mim depositada.

À minha co-orientadora Dra. Vanessa Marinho pela amizade e substancial ajuda com os cortes histológicos.

À minha esposa Flávia, agradeço pela paciência, pela generosidade de saber me dividir com as tarefas desta dissertação e com o trabalho, e principalmente por ter sido meu principal incentivo para cumprir mais esta etapa. Agradeço pelo companheirismo constante, pelo cuidado que tem comigo e pelo amor que me faz prosseguir.

Aos meus pais e em especial à minha mãe, que é meu maior exemplo de generosidade, honestidade, humildade e persistência. Agradeço muito por vocês poderem presenciar mais esta conquista.

À Rosana e ao Waldercy pelo apoio, incentivo e fundamental ajuda, e à minha “família adotiva”.

Aos meus chefes pelas concessões e liberações para cursar as disciplinas, em especial à Maj. Andrea e ao Dr. Wagner Paz, e a todos os colegas de trabalho pela compreensão de minhas ausências.

Ao amigo Dr. José Maria Fernandes pela substancial ajuda na construção do *software* piloto do nomograma.

Ao amigo Dr. Douglas Soltau Gomes, e à agora Dra. Ana Carolina Porto pela parceria no trabalho na coleta de dados e a toda a família do Laboratório de Patologia Mamária da FM-UFMG.

Aos colaboradores de São Paulo, Dra. Solange Carvalho, Dra. Cynthia Toledo, Dr. Fernando Soares, Dr. Alfredo Ribeiro-Silva e Dr. Gyl Eanes, pela generosidade e colaboração fundamental para a realização deste estudo.

Aos professores da Pós-Graduação, em especial Prof. Geovanni Cassali, Prof. Wagner Tafuri e Prof. Geraldo Brasileiro Filho pela dedicação e competência.

Aos funcionários do Departamento de Anatomia Patológica da FM-UFMG por nos darem condições de desenvolver a pesquisa frente a tantas dificuldades e do Centro de Pós-Graduação da FM-UFMG pela compreensão e apoio.

Ao Dr. Marcelo Militão e equipe da Meta pelo profissionalismo na análise estatística e pela paciência com minhas intervenções, sugestões e revisões.

À equipe multidisciplinar do serviço de Mastologia do Hospital das Clínicas da UFMG que me proporcionaram uma formação excelente e uma convivência agradável durante a residência médica.

Às pacientes pela doação do corpo que acalenta a alma e pela confiança de entregar sua saúde em nossas mãos.

Aos amigos de sempre, de um dia ou de uma vida, aos velhos amigos e aos novos amigos que fiz nesta jornada.

E principalmente a Deus, por ter colocado todas essas pessoas maravilhosas em meu caminho, que tornam a caminhada mais alegre, tranquila e recompensadora.

SUMÁRIO

	Página
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos	I
Lista de figuras, quadros e tabelas	III
Resumo	V
Abstract	VI
1- INTRODUÇÃO	1
2- OBJETIVOS	14
3- PACIENTES E MÉTODOS	16
4- RESULTADOS	33
5- DISCUSSÃO	56
7- CONCLUSÕES	71
8- ANEXOS	73
9- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

LISTA DE ABREVIATURAS

ALND	<i>complete axillary lymph node dissection</i>
AUC	<i>area under curve</i> (área sob a curva)
BLS	biópsia do linfonodo sentinela
cga	campos de grande aumento
DP	desvio padrão
EA	esvaziamento axilar
<i>et al.</i>	e outros
HE	hematoxilina e eosina
HER2	receptor do fator de crescimento epidérmico humano tipo 2 (ou <i>c-erb-B2</i>)
IC	intervalo de confiança
IHQ	imuno-histoquímica(o)
NSLN	<i>non-sentinel lymph node</i>
LS	linfonodo(s) sentinela(s)
OR	<i>odds ratio</i>
Q	quartil
RE	receptor(es) de estrógeno
RP	receptor(es) de progesterona
ROC	<i>receiver operating characteristic</i> (características operacionais de recepção)
SLN	<i>sentinel lymph node</i>
SOE	sem outra especificação
^{99m} Tc	isótopo do tecnécio metaestável de número atômico 99
TNM	T = a extensão do tumor primário; N = a ausência ou presença e a extensão de metástase em linfonodos regionais; M = a ausência ou presença de metástase à distância

LISTA DE SIGLAS

ASCO	<i>American Society of Clinical Oncology</i>
CAP	Colégio Americano de Patologistas (<i>College of American Pathologists</i>)
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
HACC	Hospital A.C. Camargo (Antônio Cândido de Camargo)
HC	Hospital das Clínicas
INCA	Instituto Nacional de Câncer
MSKCC	<i>Memorial Sloan-Kettering Cancer Center</i>
MDACC	<i>M.D. Anderson Cancer Center</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
SBP	Sociedade Brasileira de Patologia
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
USPRP	Universidade de São Paulo de Ribeirão Preto

LISTA DE SÍMBOLOS

=	igual a
>	maior que
$\geq$	maior ou igual a
<	menor que
$\leq$	menor ou igual a
β	beta
μm	micrômetro(s)
cm	centímetro(s)
ml	mililitro(s)
mm	milímetro(s)

LISTA DE FIGURAS, QUADROS E TABELAS

LISTA DE FIGURAS	Página
Figura 1 – Distribuição amostral e seleção dos casos.....	20
Figura 2 – Exame microscópico do linfonodo.....	23
Figura 3 – Processamento macroscópico do linfonodo.....	27
Figura 4 – Histograma da idade das pacientes.....	37
Figura 5 – <i>Box-plot</i> da idade dos pacientes estratificada por instituição.....	46
Figura 6 – Nomograma para o modelo final.....	51
Figura 7 – Nomograma para o modelo final - exemplo.....	52
Figura 8 – Nomograma para o modelo alternativo.....	53
Figura 9 – Curva ROC para probabilidades ajustadas pelo modelo final em relação ao grupo populacional estudado.....	55
Figura 10 – Curva ROC para probabilidades ajustadas pelo modelo alternativo em relação ao grupo populacional estudado.....	55

LISTA DE QUADROS	Página
Quadro 1 – Estudos que avaliaram os fatores de risco para o acometimento metastático dos linfonodos não-sentinela em pacientes com linfonodo sentinela positivo.....	7

LISTA DE TABELAS**Página**

Tabela 1 – Distribuição da amostra e seleção dos casos nas instituições envolvidas no estudo.....	19
Tabela 2 – Descrição das covariáveis categóricas do estudo.....	35
Tabela 3 – Descrição da idade das pacientes.....	37
Tabela 4 – Comparação entre a idade das pacientes e a presença de metástases no esvaziamento axilar (EA positivo ou EA negativo).....	38
Tabela 5 – Comparação entre as covariáveis categóricas do estudo e a presença de metástases no esvaziamento axilar.....	40
Tabela 6 – Modelo final de regressão logística para presença de metástases no esvaziamento axilar.....	42
Tabela 7 – Modelo alternativo de regressão logística para presença de metástases no esvaziamento axilar.....	43
Tabela 8 – Valor-p das covariáveis do modelo multivariado de regressão logística	44
Tabela 9 – Comparação entre as instituições de origem e covariáveis de interesse.	45
Tabela 10 – Descrição da idade das pacientes por instituição.....	46
Tabela 11 – Comparação entre presença de invasão de vasos linfáticos e covariáveis de interesse.....	47
Tabela 12 – Comparação entre número de linfonodos sentinela positivos (três categorias) e covariáveis de interesse.....	48
Tabela 13 – Comparação entre número de linfonodos sentinela positivos (duas categorias) e covariáveis de interesse.....	49
Tabela 14 – Comparação entre método de detecção e tamanho da maior metástase do linfonodo sentinela.....	50
Tabela 15 – Área sob curva ROC para os valores de probabilidades ajustadas.....	54

RESUMO

INTRODUÇÃO: Atualmente, recomenda-se a realização de esvaziamento axilar (EA) quando o linfonodo sentinela (LS) apresenta metástases de câncer de mama. Entretanto, 40 a 70% das pacientes com biópsia de linfonodo sentinela (BLS) positiva não apresentam metástases nos linfonodos não-sentinela e o EA tem sido questionado nestes casos. **OBJETIVOS:** Os objetivos de nosso estudo foram avaliar os fatores de risco para ocorrência de metástases em linfonodos não-sentinela em pacientes com LS positivo e propor um modelo matemático (nomograma) para predição do risco de acometimento dos linfonodos não-sentinela no EA nestas pacientes. **PACIENTES E MÉTODOS:** Foram analisadas 326 pacientes com câncer de mama e BLS positiva divididas em dois grupos de acordo com o acometimento de linfonodos não-sentinela no EA: pacientes com todos linfonodos não-sentinela negativos e pacientes com pelo menos um linfonodo não-sentinela positivo. Características clínicas das pacientes e anatomopatológicas dos tumores primários (tamanho tumoral, tipo e grau histológico, índice mitótico, grau nuclear, invasão de vasos sanguíneos e linfáticos, status dos receptores de estrógeno e progesterona) e dos LS (número de LS positivos e negativos, método de detecção da metástase e tamanho da maior metástase) foram coletados. Os dados foram submetidos às análises uni e multivariada com regressão logística, seguidas da construção de um modelo matemático (nomograma) para predição do risco de acometimento dos linfonodos não-sentinela no EA em pacientes com BLS positiva. A acurácia do nomograma proposto foi medida através da área (AUC) sob a curva de características operacionais de recepção (curva ROC). **RESULTADOS:** As análises uni e multivariada identificaram os seguintes fatores de risco para acometimento de linfonodos não-sentinela com os respectivos valores de p: tamanho da maior metástase do LS ($p<0,001$; $p=0,002$), número de LS positivos ($p=0,006$; $p=0,04$) e número de LS negativos ($p=0,01$; $p=0,004$). A invasão de vasos linfáticos apresentou níveis significância próximos ($p=0,075$, $p=0,085$) àquele considerado estatisticamente significativo e também foi incluída no nomograma. O nomograma apresentou acurácia de 70% (AUC=0,70). **CONCLUSÕES:** Nossos dados mostraram que o tamanho da maior metástase do LS e o número de LS positivos e negativos parecem ser fatores de risco preditivos para o acometimento metastático de linfonodos não-sentinela em pacientes com BLS positiva. Sugerimos incluir estes dados nos laudos patológicos do LS. Nosso nomograma, similar a outros modelos disponíveis na literatura, pode representar uma ferramenta adicional para ajudar médicos e pacientes na decisão de realizar ou não EA em pacientes com BLS positiva.

PALAVRAS-CHAVE: câncer, mama, metástase, linfonodo, sentinela, fatores de risco

ABSTRACT

BACKGROUND: According to the standard of care for breast cancer patients, complete axillary lymph node dissection (ALND) is performed when sentinel lymph node (SLN) presents metastasis. However, 40 to 70% of patients with positive SLN are found to have no other metastasis in non sentinel lymph node (NSLN) and the value of complete axillary lymph node dissection (ALND) has been questioned. The aim of our study was to evaluate risk factors for NSLN metastasis in patients with positive-SLN.

PACIENTS AND METHODS: We reviewed 326 cases of patients with breast cancer and positive-SLN divided into two groups according to the nodal involvement in the ALND: patients with all NSLN negative for metastasis and patients with at least one positive NSLN. Clinical features of the patients, pathological features of the primary tumor (tumor size, histological tumor type and grade, mitotic index, nuclear grade, invasion of blood and lymphatic vessels, estrogen and progesterone receptors status) and SLN (number of positive and negative SLN, detection method of metastasis and size of the largest metastasis) were assessed. Data were submitted to univariate and multivariate logistic regression to evaluate the risk of metastasis in the NSLN, followed by construction of a mathematical model (nomogram) to predict the presence of additional disease in the non-SLN of these patients. The accuracy of the proposed nomogram was measured by the area under (AUC) the receiver operating characteristic curve (ROC curve).

RESULTS: The univariate and multivariate analyses identified the following risk factors for involvement of NSLN with the respective p values: size of the largest SLN metastasis ($p < 0.001$, $p = 0.002$), number of positive SLN ($p = 0.006$, $p = 0.04$) and number of negative SLN ($p = 0.01$, $p = 0.004$). Invasion of lymphatic vessels showed p values of 0.075 and 0.085 (not statistically significant) but was also included in the nomogram. The nomogram showed an accuracy of 70% (AUC = 0.70).

CONCLUSIONS: Our data showed that size of the largest SLN metastasis and number of positive and negative SLN were predictive risk factors for metastatic involvement of NSLN in patients with positive-SLN. These data must be informed in the SLN report. Our nomogram, similar to other models, may represent an additional tool to help physicians and patients who decide whether or not a complete ALND should be performed.

KEYWORDS: cancer, breast, metastasis, lymph node, sentinel, risk factors

1- INTRODUÇÃO

1- INTRODUÇÃO

1.1- Aspectos gerais sobre o câncer de mama

O câncer de mama é a neoplasia maligna mais frequente na mulher e a segunda causa de morte, sendo considerado o principal problema de saúde pública da população feminina na atualidade (CARLO, 2005; VERONESI, 2005), com uma incidência crescente nas últimas décadas. Uma em cada oito mulheres norte-americanas desenvolverá algum tipo de câncer de mama ao longo de sua vida (JEMAL, 2004). Segundo o Instituto Nacional de Câncer, o número de casos novos de câncer de mama esperados para o Brasil em 2010 será de 49.240, com um risco estimado de 49 casos a cada 100 mil mulheres. E na Região Sudeste, o câncer de mama será o mais incidente entre as mulheres em 2010, com um risco estimado de 65 casos novos por 100 mil (BRASIL, 2009).

O tríptico diagnóstico do câncer de mama depende da avaliação clínica, dos exames de imagem e do diagnóstico histopatológico. O tratamento é multidisciplinar, inclui cirurgia, radioterapia, quimioterapia, hormonioterapia, fisioterapia e psicologia; e seu sucesso depende de diagnóstico e intervenção precoces.

O tratamento cirúrgico clássico do câncer de mama foi descrito por Halsted no final do século XIX (HALSTED, 1894). Halsted introduziu uma técnica cirúrgica que reduziria a alta mortalidade pelo câncer de mama: a mastectomia radical, com retirada de toda a glândula mamária, da pele sobrejacente, dos músculos grande e pequeno peitoral, seguida do esvaziamento axilar. Apesar da alta morbidade do tratamento radical, somente na segunda metade do século XX os procedimentos cirúrgicos utilizados no tratamento do câncer de mama sofreram modificações

expressivas, tornando-se progressivamente menos agressivos e menos invasivos. Inicialmente na década de 60 com as mastectomias radicais modificadas de Patey, com preservação do músculo peitoral maior, e de Madden, com preservação dos músculos peitorais maior e menor (HANDLEY, 1963; MADDEN, 1965), seguidas das cirurgias conservadoras da mama (quadrantectomia, setorectomia) associadas à radioterapia desde a década de 70 (FLETCHER, 1976).

1.2- Tratamento cirúrgico da axila no câncer de mama

Por cerca de um século, desde a descrição do tratamento cirúrgico clássico do câncer de mama por Halsted, o esvaziamento axilar (EA) ou dissecação axilar completa foi considerado o procedimento de escolha para o estadiamento e tratamento da axila em casos de carcinoma invasivo da mama. O EA consiste na ressecção do conteúdo axilar incluindo linfonodos dos níveis I e II (localizados lateralmente e sob o músculo pequeno peitoral, respectivamente) e em alguns casos também de linfonodos do nível III (medialmente ao músculo pequeno peitoral).

Entretanto, em até 75% das pacientes com carcinomas precoces de mama e axila clinicamente negativa não se encontram linfonodos metastáticos nas dissecações axilares (DEES, 1997). Estimulados por esta observação e com o intuito de evitar a alta morbidade do EA, Krag e Giuliano descreveram uma técnica anteriormente utilizada no estadiamento de pacientes com câncer de pênis (FOWLER, 1984) e vulva (DISAIA, 1979), a biópsia do linfonodo sentinela (BLS), na determinação do *status* linfonodal axilar em pacientes com tumores iniciais de mama, evitando-se a realização do EA quando a BLS era negativa (KRAG, 1993; GIULIANO, 1994).

Conceitua-se linfonodo sentinela (LS) o primeiro linfonodo que recebe a drenagem linfática do tumor primário.

A técnica da BLS consiste na dissecação e exérese de um ou mais linfonodos regionais, na maioria das vezes linfonodos axilares, após injeção pré-operatória na mama de um marcador radioativo (^{99m}Tc - tecnécio-99m), seguida de linfocintilografia para localização do LS, podendo-se utilizar também injeção per-operatória de corante azul patente (azul vital). A localização dos LS é guiada pelo *Gama Probe* (contador portátil de radiação gama) e/ou pela coloração azul dos vasos linfáticos e linfonodos (KRAG, 1993; GIULIANO, 1994; RODIER, 2007). O número de linfonodos detectados é variável (um a seis linfonodos), com níveis diferentes de captação e/ou de coloração pelo azul patente. A acurácia da técnica da BLS pode chegar a 97% dependendo da experiência do cirurgião (GIULIANO, 1996; POSTHER, 2005). A taxa de falso-negativo é de aproximadamente 5% (LEIDENIUS, 2008).

Para a análise anatomopatológica do LS, pode-se proceder ao exame per-operatório seguido do exame pós-operatório em parafina.

O método de exame per-operatório do LS é variável, sendo o *imprint* citológico o mais utilizado, com sensibilidade de 84,6%, especificidade de 96,6% e acurácia de 94,1% para o diagnóstico de metástases no LS em pacientes com câncer de mama (MOTOMURA, 2008).

O exame per-operatório do LS permite ao mastologista definir pela necessidade ou não da realização do EA no mesmo ato cirúrgico da BLS. Pelo tratamento padrão atual do câncer de mama, a positividade do LS no exame per-operatório autoriza o mastologista a realizar o EA. Reduz-se o tempo total do tratamento cirúrgico, o risco anestésico e os custos, pois se evita uma nova intervenção cirúrgica para uma posterior realização do EA, que é necessária quando não se

realiza o exame per-operatório e o LS é positivo no exame histopatológico na parafina (MOTOMURA, 2007).

O exame histopatológico pós-operatório do material incluído em parafina é o padrão-ouro para a confirmação do diagnóstico de metástases no LS (BAUERFEIND, 2004).

A principal vantagem da técnica da BLS é sua menor morbidade em relação ao EA. O EA clássico consiste na ressecção do conteúdo da axila, incluindo as cadeias linfonodais dos níveis 1 e 2 e, em alguns casos, também do nível 3. A comorbidade mais relevante é o linfedema crônico de membro superior, que ocorre em cerca de 30% (7%-56%) das pacientes submetidas ao EA e varia de 0 a 6% naquelas submetidas à BLS (HACK, 1999; GERBER, 1992; VERONESI, 2003; MAGALDI, 2005). Além do grande prejuízo na funcionalidade do membro superior e risco de infecções, o prejuízo estético em casos de linfedema crônico é expressivo. Entre as complicações agudas, também mais frequentes no EA, destacam-se dor, parestesias, hipoestésias, hiperestésias, hemorragia, formação de seroma e o linfedema agudo (BLANCHARD, 2003; FERREIRA, 2008). Em pacientes com carcinoma invasivo de mama, a BLS reduz a morbidade cirúrgica axilar, pois minimiza os danos ao sistema linfático decorrentes do EA (ZAVAGNO, 2005).

A sensibilidade da BLS é superior a do EA, devido ao exame histopatológico mais minucioso de um único ou de poucos linfonodos, submetidos a cortes com intervalos de 2 mm ou menos. A BLS mostrou-se superior ou pelo menos equivalente ao EA na acurácia do estadiamento axilar (FLEMING, 2004).

A BLS tornou-se o método de escolha na determinação do *status* linfonodal e tratamento da axila em pacientes com carcinomas mamários invasores iniciais, sem a

necessidade da realização de EA nos casos de BLS negativa (VERONESI, 2005; VERONESI, 2003; MORROW, 2003).

O acometimento de linfonodos axilares persiste como o fator prognóstico mais significativo em pacientes com carcinoma invasor da mama (VAN ZEE, 2003). Além de ditar o tratamento cirúrgico da axila, o estadiamento axilar é determinante na indicação ou não de quimioterapia. Torna-se imperativa a abordagem cirúrgica da axila através do EA ou BLS, seja com finalidade terapêutica ou para o estadiamento da doença. No entanto, o significado do EA no tratamento do câncer de mama tem sido questionado, tanto em função de sua alta morbidade, mas principalmente por não influir na sobrevida global e sim somente na sobrevida livre de doença das pacientes (FISHER, 2002).

1.3- Fatores de risco para metástases em linfonodos não-sentinela

Recomenda-se a realização de EA quando o LS apresenta doença metastática. Entretanto, sabe-se que 40% a 70% das pacientes com metástases no linfonodo sentinela (LS positivo) não apresentam metástases nos linfonodos não-sentinela no EA (TURNER, 1997; GIULIANO, 2000; KAMATH, 2001; SACHDEV, 2002; VAN ZEE, 2003; HWANG, 2003; PONZONE, 2007; KOHRT, 2008; UNAL, 2008; GUILLO, 2009). Nestes casos, o LS é o único linfonodo acometido por doença metastática, sendo que o EA poderia ser evitado, prevenindo seu potencial risco de comorbidades. Essa observação motivou a realização do nosso estudo.

Nos últimos anos, vários estudos estão sendo realizados com o intuito de determinar os fatores de risco para o acometimento metastático dos linfonodos não-sentinela em pacientes com LS positivo. O objetivo final destes estudos seria identificar pacientes com BLS positiva e baixo

risco para apresentar metástases nos linfonodos não-sentinela nas quais o EA poderia ser evitado. Na maioria destes trabalhos as variáveis avaliadas incluíam idade da paciente, *status* menopausal, subtipo e grau histológico do tumor primário, grau nuclear ou citológico, tamanho do tumor ou estadio anatomopatológico (pT), *status* dos receptores de estrógeno (RE) e progesterona (RP), presença de invasão de vasos linfáticos e/ou sanguíneos, número de LS removidos, número de LS positivos, tamanho da maior metástase do LS, geralmente > 2 mm ou ≤ 2 mm (macro ou micrometástases). Alguns deles avaliaram a localização do tumor primário, tipo de cirurgia, local de injeção e marcador utilizados, presença de extensão extracapsular linfonodal, *status* do HER2 no tumor primário, realização de quimioterapia neoadjuvante, método de detecção das metástases e presença de células tumorais isoladas. O Quadro 1 destaca alguns destes estudos e as covariáveis de significância estatística.

Quadro 1: Estudos que avaliaram os fatores de risco para o acometimento metastático dos linfonodos não-sentinela em pacientes com linfonodo sentinela positivo.

Estudo	n*	Fatores de risco com significância estatística na análise multivariada	Valor de p
WONG, 2001	389	Tamanho do tumor Número de LS positivos	<0,001 <0,001
KAMATH, 2001	101	Tamanho da metástase no LS	<0,001
WEISER, 2001	206	Tamanho do tumor Tamanho da metástase no LS Presença de invasão linfovascular	0,007 0,0002 0,154
CHUA, 2001	51	Tamanho do tumor	0,005
FLEMING, 2003	54	Extensão extracapsular** Tamanho da metástase no LS	0,0163 0,024
HWANG, 2003	131	Tamanho do tumor Tamanho da metástase no LS	0,009 0,024

		Presença de invasão linfovascular	0,028
		Número de LS ressecados	0,04
VAN ZEE, 2003	702 + 373***	Tamanho do tumor	0,001
		Presença de invasão linfovascular	0,003
		Método de detecção da metástase no LS	<0,001
		Número de LS positivos	<0,001
		Número de LS negativos	<0,001
SAIDI, 2004	34	Presença de massa tumoral palpável	0,03
		Tamanho do tumor	0,04
		Presença de invasão linfovascular	0,03
		Extensão extracapsular**	0,001
FAN, 2005	114	Tamanho da metástase no LS	0,0001
VIALE, 2005	1228	Tamanho da metástase no LS	<0,0001
		Número de LS positivos	<0,0001
		Presença de invasão vascular peritumoral	<0,0001
BARRANGER, 2005	71	Tamanho do tumor	0,006
		Presença de macrometástase no LS	0,02
		Proporção de <u>LS positivos</u> LS removidos	0,03
KHORT, 2008	285	Tamanho do tumor x (Tamanho da metástase no LS) ²	<0,0001
		Presença de invasão linfovascular	0,024

* Considerada apenas a amostra de pacientes com LS positivos;

** Extensão extracapsular = tumor evidenciado fora da cápsula do linfonodo;

*** 702 pacientes analisadas retrospectivamente e 373 analisadas prospectivamente.

Dentre os estudos publicados destacam-se dois trabalhos: o nomograma desenvolvido no *Memorial Sloan-Kettering Cancer Center* (MSKCC) em Nova Iorque (VAN ZEE, 2003) e o escore desenvolvido no *M.D. Anderson Cancer Center* (MDACC) em Houston (HWANG, 2003). Estes estudos propuseram modelos matemáticos para separar pacientes com alto risco de metástases daqueles com baixo risco, onde o EA poderia ser evitado. Estes trabalhos foram os primeiros a propor modelos práticos, exequíveis e acessíveis à maioria dos centros de tratamento do câncer de mama.

O estudo desenvolvido no MSKCC (VAN ZEE, 2003) envolveu 1075 pacientes, sendo 702 analisadas retrospectivamente por regressão logística multivariada e 373 pacientes analisadas prospectivamente com a aplicação prática do nomograma proposto. O nomograma corresponde a um modelo matemático de cálculo de probabilidade. Oito variáveis foram incluídas no nomograma: tipo histológico com grau nuclear, invasão de vasos linfáticos, multifocalidade, receptor de estrógeno, número de LS negativos, número de LS positivos, tamanho do tumor e método de detecção da metástase. A acurácia do nomograma foi avaliada prospectivamente pelo cálculo da área sob a curva ROC (do inglês *Receiver Operating Characteristic curve* ou curva de características operacionais de recepção) com um valor 0,77, o que corresponde a uma predição verdadeira em 77% dos casos, sendo considerado um teste razoável.

Já o estudo do MDACC (HWANG, 2003) analisou uma gama mais completa de variáveis e propôs um sistema de escore, atribuindo um coeficiente β aos 4 fatores independentes e estatisticamente significativos para a predição do acometimento dos linfonodos não-sentinela: tamanho do tumor primário, número de LS removidos, maior metástase do linfonodo sentinela e presença de invasão linfovascular. O estudo apresentou sensibilidade de 100% para o menor

escore possível, mas com especificidade muito baixa, em função provavelmente de amostra reduzida.

Vários estudos avaliaram a reprodutibilidade do nomograma do MSKCC em outros grupos populacionais (DEGNIM, 2005; ALRAN, 2007; KOHRT, 2008; COUFAL, 2009). A acurácia medida pela área sob a curva ROC apresentou uma variação expressiva entre os grupos populacionais avaliados ($AUC = 0,538$ a $0,86$) (ALRAN, 2007; DEGNIM, 2005). O nomograma do MSKCC apresentou baixa acurácia em pacientes com micrometástases no LS. Outros estudos de validação mediram o impacto da utilização do nomograma do MSKCC na diminuição da indicação de EA nas pacientes com LS positivo para metástases, comparando a sensibilidade do nomograma com a avaliação clínica (SPECHT & VAN ZEE, 2005) e até mesmo comparando-o com o escore do MDACC (PONZONE, 2007).

Seguindo metodologias semelhantes aos estudos que originaram o nomograma do MSKCC e o escore do MDACC, outros estudos também propuseram modelos matemáticos para a predição de metástases em linfonodos não-sentinela, como o nomograma de Mayo (DEGNIM, 2005), o nomograma de Cambridge (PAL, 2008), o escore de Saidi (SAIDI, 2004) e o escore de Tenon (BARRANGER, 2005).

O nomograma de Mayo incluiu as seguintes variáveis: tamanho da metástase, tamanho tumoral, número de LS negativos e positivos, presença extensão de extracapsular linfonodal e expressão de receptor de estrógeno (DEGNIM, 2005).

O nomograma de Cambridge incluiu o grau tumoral, tamanho da maior metástase do LS e a proporção de LS envolvidos sobre todos os LS removidos. Quando aplicado em sua própria população de estudo o nomograma de Cambridge apresentou uma acurácia de 84% ($AUC = 0,84$) (PAL, 2008).

O escore de Saidi varia de 0 a 5 pontos e incluiu as seguintes variáveis: presença de massa palpável na mama, tamanho tumoral, presença de invasão angiolinfática e extensão extracapsular linfonodal. Um escore menor ou igual a 2 significaria um risco de 5,8% de acometimento de linfonodos não-sentinela (SAIDI, 2004).

O escore de Tenon incluiu somente três variáveis: presença de macrometástase no LS, tamanho tumoral e a proporção de LS envolvidos sobre todos os LS removidos. O escore varia de 0 a 7 e uma paciente com um escore $<3,5$ apresentaria probabilidade de 97,3% de não apresentar metástases em linfonodos não-sentinela. (BARRANGER, 2005)

Um estudo realizado na *Stanford University School of Medicine* nos Estados Unidos (KOHRT, 2008) apresentou outro modelo matemático para predição do acometimento de linfonodos não-sentinela em pacientes com câncer de mama e LS positivo. Tal modelo inclui três variáveis (tamanho do tumor, tamanho da metástase do LS e presença de invasão angiolinfática) e demonstra maior acurácia e praticidade quando comparado com as oito variáveis necessárias para o nomograma do MSKCC. Foi o primeiro modelo que avaliou o sinergismo entre as variáveis analisadas, utilizando três abordagens de cálculo diferentes.

Seguindo o exemplo do nomograma do MSKCC, o modelo de Stanford e alguns outros estudos disponibilizaram um modelo de cálculo na rede mundial de computadores, permitindo ao mastologista calcular de forma rápida uma estimativa de risco de metástases em linfonodos não sentinela em suas pacientes com BLS positiva (VAN ZEE, 2003; KOHRT, 2008).

1.4- O nomograma

Conceitua-se nomograma como um modelo matemático para cálculo de probabilidade. Nomogramas são ferramentas práticas e objetivas que proporcionam uma estimativa de risco individualizada que considera características de um único paciente, mas que é baseada em evidências geralmente de um grande grupo populacional. Auxiliam médicos na tomada de decisões em situações clínicas difíceis, através de predições consistentes, padronizadas e confiáveis. Predições de nomogramas são repetidamente superiores quando comparadas àquelas realizadas por *experts* em vários estudos de validação. Além disso, os nomogramas proporcionam estimativas de risco em escalas de 0 a 100%, as quais são substancialmente de mais fácil compreensão que, por exemplo, um aumento de determinado número de vezes no risco. Medidas de risco em um grupo populacional (por exemplo, o risco de uma mulher apresentar câncer de mama no Brasil) proporcionam predições muito gerais, as quais podem não se aplicar ao interesse do paciente em saber seu risco individual, levando em consideração suas características pessoais, como seus antecedentes familiares, hábitos de vida, etc..

Os nomogramas já são amplamente utilizados para auxiliar médicos nas indicações terapêuticas e aconselhamento de pacientes com câncer renal, de bexiga e de próstata, e também na indicação de transplantes renais. Avaliam fatores prognósticos ou fatores de risco individuais relacionados às doenças, aos métodos diagnósticos ou terapêuticos (KARAKIEWICZ, 2008).

1.5- A curva ROC

As curvas ROC (do inglês *Receiver Operator Characteristic curve*) foram desenvolvidas na década de 1950 como subproduto da investigação sobre a recepção de sinais de rádio contaminados por ruídos. A expressão pode ser traduzida como curva de características operacionais de recepção. Tornaram-se muito populares na área biomédica, particularmente na radiologia e imaginologia. Podem ser usadas para avaliar acurácia e comparar testes e procedimentos.

A curva ROC mostra a relação entre a sensibilidade e a taxa de falso-positivo de um teste, que define a presença ou não de uma doença ou condição. A curva ROC é construída por meio da representação gráfica da taxa de verdadeiro-positivos (sensibilidade) representada no eixo Y (vertical) contra a taxa de falso-positivos (especificidade) representada no eixo X (horizontal). A sensibilidade e a especificidade de cada valor definido como ponto de corte foi calculado e representado no gráfico. A união dos pontos gera a curva ROC. Os valores nos eixos vão de uma probabilidade de 0 a 1 (ou percentualmente de 0 a 100%).

A área sob a curva ROC (do inglês *area under curve* - AUC) é uma medida sumária que reflete a capacidade inerente de um teste para discriminar um indivíduo doente de um não-doente dentre todos os níveis de positividade, ou seja, a área sob a curva ROC determina a acurácia do teste.

O resultado do cálculo da área sob a curva ROC pode ser interpretado como acurácia excelente, quando o resultado é de 0,90 a 1,0, boa (de 0,80 a 0,90), razoável (0,70 a 0,80), ruim (de 0,60 a 0,70) e muito ruim ou teste sem efeito (de 0,50 a 0,60) (TAPE).

1.6- Justificativa

Novos estudos estão sendo realizados para validar os métodos propostos para a determinação dos fatores de risco para o acometimento linfonodal axilar quando a BLS é positiva. Apesar dos vários trabalhos publicados sobre o assunto, os modelos matemáticos propostos pela literatura internacional ainda não estão totalmente validados. Ainda há controvérsias entre a significância estatística de algumas variáveis entre os diversos estudos, como por exemplo, a invasão de vasos linfáticos.

É importante também avaliar o comportamento dos modelos matemáticos propostos em outras populações com diagnóstico de câncer de mama. Ainda não há estudos publicados em literatura indexada aplicando-se estes modelos de predição de metástases em pacientes brasileiras.

A construção de novos modelos buscando maior acurácia poderá servir como base científica no aconselhamento das pacientes com BLS positiva e que seriam candidatas a EA.

2- OBJETIVOS

2- OBJETIVOS

2.1- Objetivo geral

Identificar fatores de risco para metástases nos linfonodos não-sentinela em pacientes com câncer de mama e LS positivo e construir um modelo matemático para predição de risco que identifique as pacientes com baixo risco de acometimento dos linfonodos não-sentinela nas quais o EA poderia ser evitado

2.2- Objetivos específicos

- Verificar se em nosso grupo populacional a frequência de pacientes com câncer de mama que apresentam LS positivo e ausência de metástases nos linfonodos não-sentinela corresponde ao encontrado na literatura.
- Avaliar características clínicas das pacientes, características anatomopatológicas dos tumores e dos LS, e determinar entre as variáveis analisadas aquelas relacionadas ao acometimento de linfonodos não-sentinela.
- Construir um modelo matemático (nomograma) para predição de risco de metástases nos linfonodos não-sentinela em pacientes com LS positivo.
- Avaliar a acurácia do modelo matemático proposto no grupo populacional estudado e compará-lo com os demais modelos disponíveis na literatura.

3- PACIENTES E MÉTODOS

3- PACIENTES E MÉTODOS

3.1- Casuística

Este é um estudo retrospectivo que incluiu pacientes com diagnóstico de carcinoma invasor de mama, estadiamento $T_1N_0M_0$, $T_2N_0M_0$ ou $T_3N_0M_0$, submetidas ao tratamento cirúrgico (mastectomia, quadrantectomia ou setorectomia), com BLS positiva. Todas as pacientes foram submetidas a BLS e posteriormente a esvaziamento axilar nos Serviços de Mastologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFGM), de 24/09/2003 a 29/02/2008; do Hospital A. C. Camargo de São Paulo (HACC), de 27/07/1999 a 06/12/2007, e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC-USPRP), de 21/06/2005 a 28/08/2008. Os diferentes períodos de estudo devem-se às diferentes datas de início da realização rotineira da BLS em cada instituição.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP-UFGM). As pacientes cujas informações foram incluídas nos bancos de dados das instituições envolvidas neste estudo assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

Definiu-se o diagnóstico de câncer de mama como diagnóstico histopatológico por espécime de biópsia ou peça cirúrgica.

Definiu-se como BLS positiva a presença de células metastáticas em pelo menos um dos linfonodos sentinela ressecados, considerando-se casos com macrometástases, micrometástases ou células tumorais isoladas.

Foram considerados os seguintes critérios de inclusão: tumor primário, LS e conteúdo axilar terem sido examinados no Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG, Serviço de Anatomia Patológica do HACC ou Serviço de Patologia do HC-USPRP e lâminas e/ou os blocos de parafina estarem disponíveis para revisão.

Os seguintes critérios de exclusão foram considerados: a impossibilidade de preencher qualquer um dos critérios de inclusão; pacientes com diagnóstico de carcinoma *in situ* puro sem diagnóstico de componente invasor; pacientes submetidas a quimioterapia ou radioterapia neoadjuvantes; pacientes com BLS positiva que por qualquer motivo não se submeteram ao EA e pacientes com falta de informações no banco de dados de cada instituição que não puderam ser solucionadas com a pesquisa nos prontuários médicos.

3.2- Seleção dos casos nas instituições

De um total de 1390 BLS consecutivas realizadas nos serviços envolvidos no estudo (1126 pacientes no HACC; 193 pacientes no HC-UFMG e 71 pacientes no HC-USPRP), 1007 pacientes apresentaram BLS negativas e 383 pacientes apresentaram BLS positivas (Tabela 1).

Tabela 1: Distribuição da amostra e seleção dos casos nas instituições envolvidas no estudo.

Instituição	BLS total	BLS negativas	BLS positivas	Excluídos	Incluídos
HACC	1126	816	310	43	267
HC-UFGM	193	134	59	13	46
HC-USPRP	71	57	14	1	13
Total	1390	1007	383	57	326

HACC: Hospital A.C. Camargo; HC-UFGM: Hospital das Clínicas da Universidade de Minas Gerais; HC-USPRP: Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto; BLS: Biópsia de linfonodo sentinela.

As 383 pacientes com BLS positiva foram submetidas aos critérios de inclusão e exclusão.

Dos 310 casos iniciais de BLS positiva obtidos pelo banco de dados do HACC, 43 (13,9%) foram excluídos, resultando em 267 casos analisados. Inicialmente, 23 casos foram excluídos em função da não realização do EA ou falta de dados que comprovassem sua realização. Entre os casos submetidos ao EA, 14 casos foram excluídos por falta de dados dos LS, 2 casos devido ao diagnóstico de CDIS de forma pura sem componente invasor, 2 casos de pacientes submetidas a quimioterapia neoadjuvante, 1 caso por falta de dados referentes ao tumor primário e 1 caso devido ao estadiamento T_{4b}.

No HC-UFGM, dos 59 casos iniciais de BLS positiva coletados nos arquivos, 13 (22%) foram excluídos, resultando em 46 casos analisados. Inicialmente, sete casos foram excluídos em função da não realização do EA ou falta de dados que comprovassem sua realização. Entre os casos submetidos ao EA, dois casos foram excluídos devido ao diagnóstico de CDIS de forma pura sem componente invasor, dois casos de pacientes submetidas a quimioterapia neoadjuvante,

um caso de EA realizada em outro serviço e um caso de linfonodo intra-mamário positivo e LS negativo, conduzido como LS positivo.

No HC-USPRP, dos 14 casos de BLS positiva coletados nos arquivos, apenas 1 (7,1%) foi excluído em função da não realização do EA ou falta de dados que comprovassem sua realização, resultando em 13 casos analisados.

As 326 pacientes incluídas no estudo foram distribuídas em 2 grupos de acordo com a presença de metástases nos linfonodos não-sentinela no EA (Figura 1):

- Grupo 1: 212 pacientes com todos linfonodos não-sentinela negativos para metástases no esvaziamento axilar (EA negativo);
- Grupo 2: 114 pacientes com pelo menos um linfonodo não-sentinela positivo para metástases no esvaziamento axilar (EA positivo).

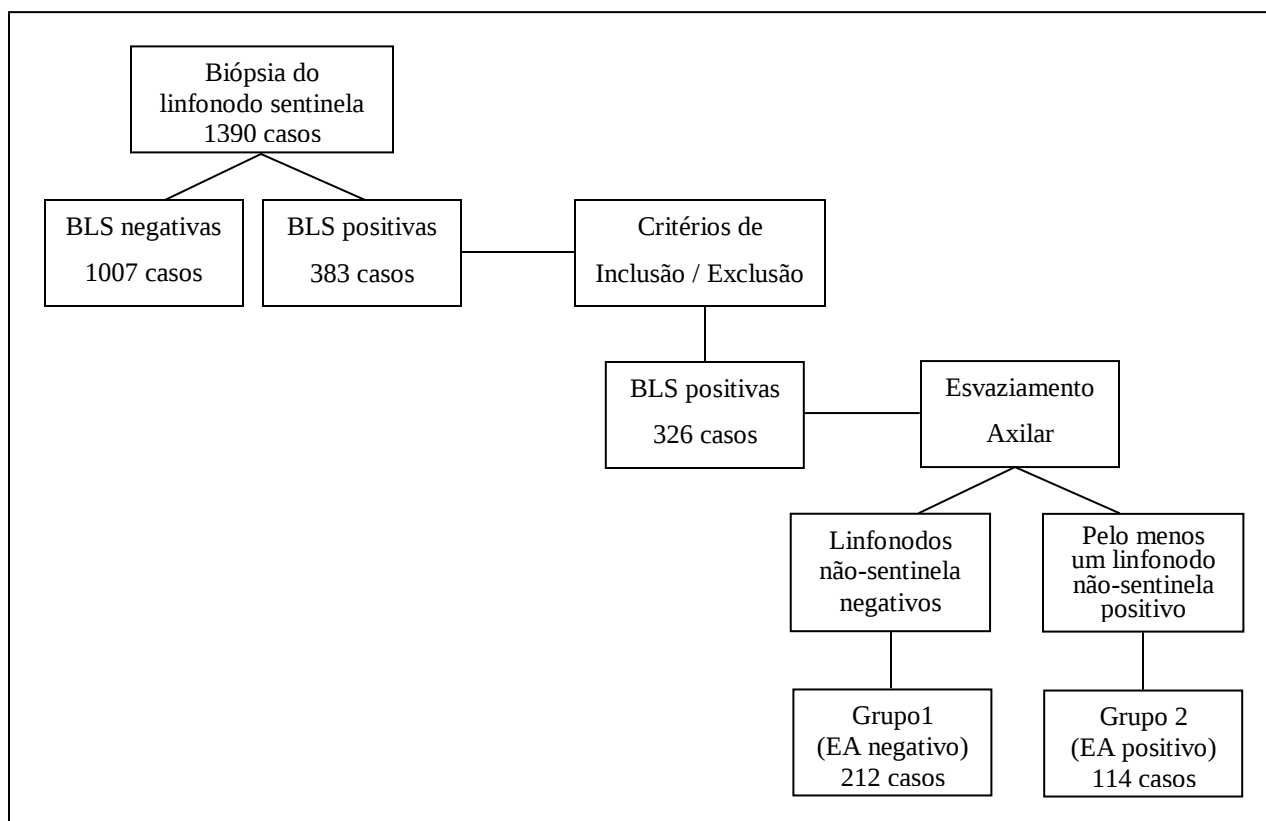


Figura 1: Distribuição amostral e seleção dos casos.

3.3- Coleta de Dados

3.3.1- Características clínicas

Foram coletados dados referentes às características clínicas das pacientes (idade, *status* menopausal) a partir informações contidas nos prontuários médicos.

A idade considerada das pacientes foi aquela na data da realização da BLS. O *status* menopausal foi coletado a partir de informações registradas nos prontuários médicos. Quando não era possível determinar o *status* menopausal pelos dados dos prontuários médicos, consideraram-se as pacientes com idade igual ou superior a 50 anos como pós-menopausadas e as pacientes com idade inferior a 50 anos como pré-menopausadas.

3.3.2- Características anatomopatológicas

A coleta de dados referentes às características anatomopatológicas dos tumores primários e linfonodos foi realizada a partir dos laudos anatomopatológicos e revisões de lâminas.

Em cada grupo, foram coletados dados sobre os fatores prognósticos do tumor primário: tamanho do tumor, grau histológico, tipo histológico, índice mitótico, grau nuclear ou citológico, invasão tumoral de vasos sanguíneos e linfáticos. Os linfonodos foram avaliados quanto à positividade para metástases, número de linfonodos positivos e negativos na BLS e no EA, tamanho da maior metástase do LS e método de detecção da metástase.

O tamanho do tumor foi avaliado segundo o sistema TNM, utilizando-se medidas macroscópicas com régua milimetrada com confirmação das margens tumorais na microscopia óptica.

Em relação à graduação histológica dos tumores da mama, as instituições avaliaram a capacidade de diferenciação arquitetural e nuclear das células, utilizando-se do sistema de SCARFF, BLOOM E RICHARDSON, 1957, modificado por ELSTON & ELLIS em 1998. Segundo este sistema, são avaliados a formação tubular, o grau nuclear e o índice mitótico.

As instituições envolvidas no estudo utilizaram para a análise do tipo histológico a classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2003) e recomendações de PAGE, 1998, que considera o tipo de célula proliferada e o arranjo arquitetural. Segundo estes critérios, os carcinomas da mama são divididos em carcinoma ductal sem outra especificação (SOE), quando não exibem características especiais. Quando os tumores apresentam características especiais, como por exemplo, extensa secreção mucinosa, eles são denominados "tipos especiais". Dentre os tipos especiais, temos os carcinomas “especiais puros”, isto é, aqueles com mais de 90% de características especiais, os carcinomas “especiais variantes”, que são aqueles com 75 a 90% de elementos especiais e as formas mistas que são aqueles carcinomas que contêm predomínio do componente ductal SOE, mas que apresentam áreas com elementos especiais (ELSTON, 1998; PAGE, 1998).

Foram coletados dados referentes ao número total de LS ressecados, número de LS positivos e número de LS negativos, a partir dos laudos de exames anatomopatológicos e suas revisões. Um patologista de cada instituição submeteu os casos à revisão de lâminas e uma nova medição das metástases dos LS foi realizada empregando os mesmos critérios. O tamanho das metástases nos linfonodos sentinelas foi avaliado em microscópio óptico com ocular

micrometrada (graduada em frações de milímetros), em cortes histológicos corados pela hematoxilina e eosina e/ou imuno-histoquímica para citoqueratinas. Nas três instituições envolvidas no estudo foi utilizado o anticorpo monoclonal anti-pancitoqueratina, clone AE1/AE3, Dako®, para as reações imuno-histoquímicas. O método empregado foi a strepto-avidina-biotina, com recuperação antigênica através do calor úmido em panela a vapor. As metástases foram classificadas como macrometástases ($>2\text{mm}$), micrometástases ($>0,2\text{mm}$ e $\leq 2\text{mm}$) ou células tumorais isoladas ($\leq 0,2\text{mm}$) (MARINHO, 2004; MARINHO, 2008; LESTER, 2009).

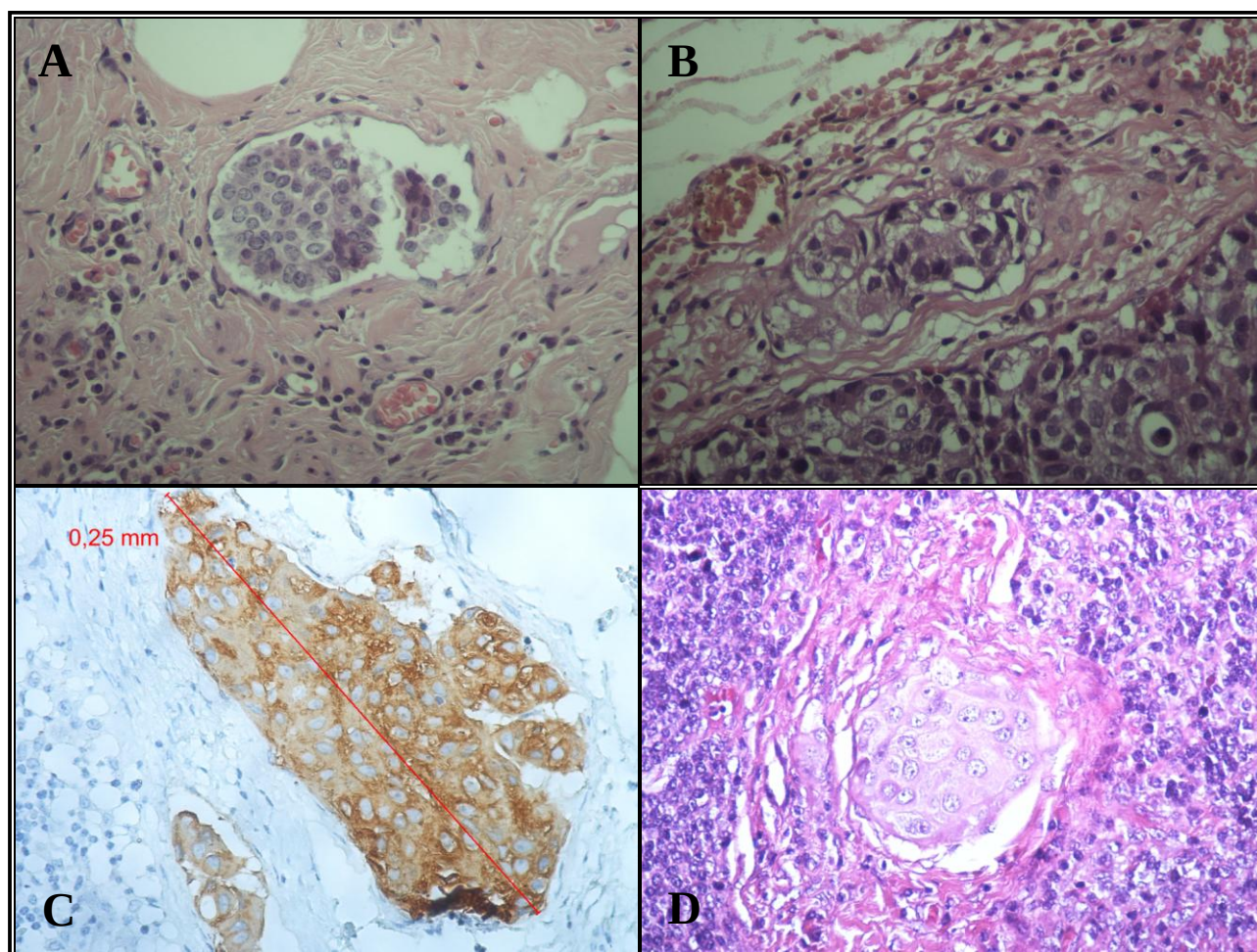


Figura 2: Exame microscópico do linfonodo. **A:** Invasão de vaso linfático por êmbolo de células neoplásicas (HE); **B:** Linfonodo com macrometástase (parcialmente visibilizada na parte inferior) e invasão da cápsula (ao centro) (HE); **C:** Micrometástase em linfonodo sentinela (citoqueratina AE1/AE3); **D:** Êmbolo neoplásico em vaso linfático aferente de linfonodo sentinela (HE).

A coleta de dados referente ao estudo imuno-histoquímico (IHQ) foi realizada a partir dos laudos arquivados em cada instituição. A expressão no tumor primário dos receptores hormonais de estrógeno (RE) e progesterona (RP) já havia sido previamente realizada na maioria das pacientes das três instituições. Os dados sobre a expressão do receptor do fator de crescimento epidérmico humano tipo 2 (HER2) estavam disponíveis nos bancos de dados de duas das três instituições envolvidas no estudo (HC-UFG e HC-USPRP). As técnicas imuno-histoquímicas empregadas já eram padronizadas nas instituições envolvidas no estudo. A avaliação das reações imuno-histoquímicas foi realizada em microscópio óptico de rotina, escolhendo os campos com expressão significativa dos antígenos (“áreas quentes” ou *hot spots*) (MARINHO, 2008). A análise dos RE e RP foi manual e semi-quantitativa considerando-se apenas a coloração nuclear através do Sistema de Avaliação de Receptores Hormonais de Allred (ALLRED, 1998).

3.4- Técnica da biópsia do linfonodo sentinela

A técnica de realização da BLS foi semelhante nas três instituições envolvidas no estudo e consistiu na injeção peritumoral ou periareolar de uma solução de nanocolóide com marcador radioativo tecnécio-99m (^{99m}Tc) no período de até 24 horas antes do procedimento, seguida de linfocintilografia para localização biplanar do LS; no intra-operatório, imediatamente antes da incisão da pele, realizou-se a injeção periareolar de 1 ml do corante azul patente, massagem local, dissecação e exérese de um ou mais linfonodos guiada pelo *Gama Probe* (contador portátil de radiação gama) e pela coloração azul dos vasos linfáticos e linfonodos. O LS foi considerado

como aquele linfonodo que primeiro recebe a drenagem linfática do tumor primário, geralmente hipercaptante e/ou bem corado pelo azul patente.

3.5- Análise anatomopatológica dos linfonodos sentinela

As três instituições envolvidas no estudo empregam métodos semelhantes de exame macroscópico, processamento e análise anatomopatológica dos LS, mas diferem em alguns aspectos como número e intervalo entre os cortes, além da direção em que os cortes são feitos e na opção de se realizar ou não o estudo imuno-histoquímico.

O linfonodo ou grupo de linfonodos identificado pelo cirurgião como LS é submetido à dissecação do tecido fibroadiposo circunjacente, com preservação da cápsula linfonodal, pois muitas micrometástases são observadas nas regiões subcapsular e pericapsular. Determina-se o número de linfonodos dissecados e em seguida é realizada a medição de cada linfonodo em três dimensões.

Na macroscopia, cada linfonodo é seccionado conforme protocolo de cada serviço e cada superfície de corte é examinada procurando-se identificar a olho nu alguma área mais firme e/ou esbranquiçada que possa corresponder à metástase.

No HACC os LS são seccionados transversalmente, em cortes paralelos, com aproximadamente 2 mm de espessura cada uma, obtendo-se múltiplos fragmentos, como demonstra a Figura 2 (A). Cada fragmento obtido apresenta duas superfícies de corte, exceto as extremidades do linfonodo. Durante o exame per-operatório procede-se o *imprint* citológico

(procedimento detalhado no próximo tópico) de cada uma das superfícies de corte para detecção de macrometástases.

Para o exame histopatológico em parafina, todas as fatias são dispostas em uma ou mais cassetes, incluídas em parafina e cada bloco é submetido a cortes semi-seriados de 5µm com três níveis de cortes histológicos. Em cada nível foram retirados dois cortes histológicos, um corado por HE, seguido de um corte histológico não corado, colhido em lâmina silanizada, que é utilizada para a realização da reação imuno-histoquímica com o anticorpo AE1/AE3, caso seja necessário. Os níveis são intercalados entre si, desprezando-se em média 30 cortes entre eles (correspondente aproximadamente a 30 voltas na manivela do micrótomo manual de parafina ou 150µm). Realizou-se a IHQ, quando os cortes corados com HE foram negativos ou duvidosos para a pesquisa de micrometástase. Por exemplo, um linfonodo sentinela de 10 mm dividido em 5 fatias de 2 mm cada terá 6 lâminas para cada fatia (2 lâminas para cada um dos 3 níveis de corte histológico), totalizando 30 lâminas (15 lâminas de HE e 15 lâminas de IHQ).

No HC-UFG, quando indicado o exame per-operatório, os linfonodos de até 5mm são cortados ao meio em seu maior eixo (longitudinal) e realiza-se o *imprint* das duas metades. Para linfonodos acima de 5mm são feitos cortes com intervalo de 2mm e *imprints* das duas faces de cada fatia, como mostra a Figura 2 (B).

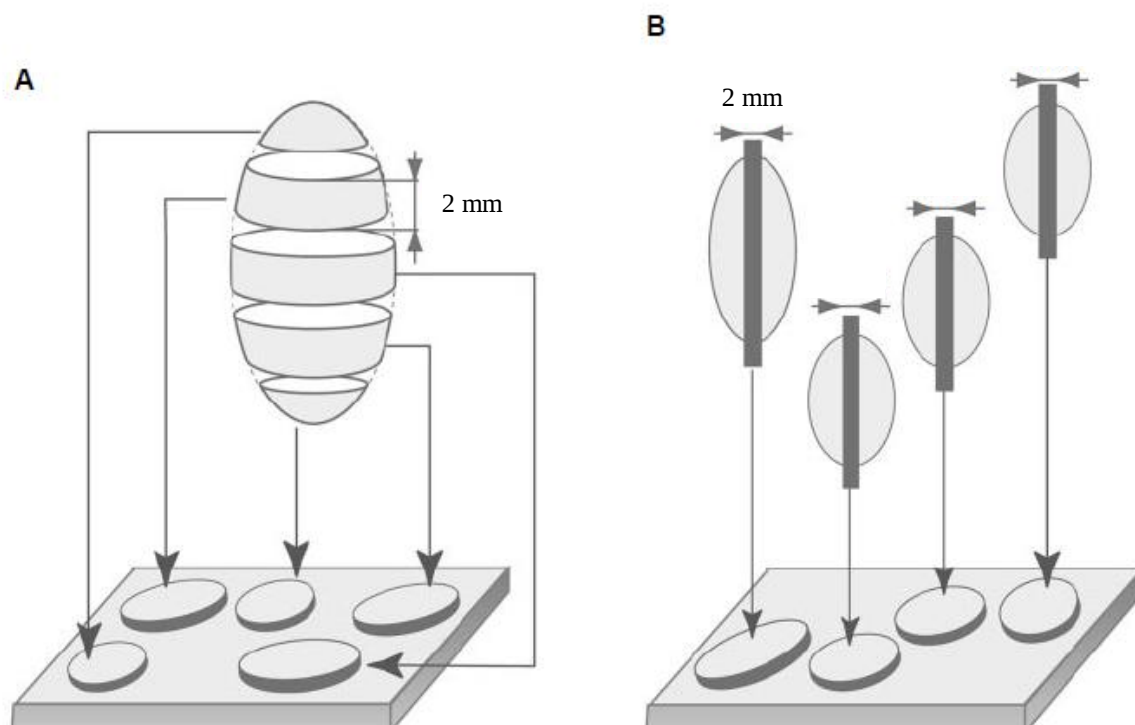


Figura 3: Processamento macroscópico do linfonodo (DE MASCAREL, 2002 - modif.).
A: Corte macroscópico transversal; **B:** Corte macroscópico longitudinal de rotina.

Para o exame histopatológico em parafina os linfonodos são cortados do mesmo modo. Linfonodos de até 5 mm são cortados ao meio em seu maior eixo (longitudinal) e as duas metades são incluídas em parafina e é feito um corte histológico corado pela HE para cada bloco de parafina. Para linfonodos acima de 5 mm são feitos cortes com intervalo de 2 mm e todas as fatias são incluídas na parafina e obtidas uma lâmina corada pela HE de cada bloco de parafina contendo cortes simples de 5µm de espessura. Caso não sejam identificadas macrometástases no LS pela HE (LS negativo pela HE), realiza-se imuno-histoquímica com anticorpo AE1/AE3. Para a realização do da IHQ é necessária a confecção de novas lâminas e os blocos de parafina retornam ao micrótomo uma segunda vez, quando há possibilidade de perda de material e de não se identificar mais possíveis micrometástases ou células tumorais isoladas previamente identificadas pela HE. Por exemplo, um linfonodo sentinela de 10 mm dividido em 5 fatias de 2

mm cada terá 1 lâmina para cada fatia, totalizando 5 lâminas para coloração pela HE. Caso não sejam identificadas macrometástases pela HE, realiza-se mais um corte histológico de cada bloco para estudo IHQ, totalizando 10 lâminas (5 lâminas de HE e 5 lâminas de IHQ).

No HC-USPRP a análise anátomo-patológica do LS é realizada conforme as recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia (SBP) e do Colégio Americano de Patologistas (CAP). No exame per-operatório são feitos cortes longitudinais de 2 a 3 mm nos LS e *imprints* de todas as fatias, das duas superfícies de corte. Em seguida, todas as fatias são incluídas na parafina e faz-se um corte histológico por bloco. As lâminas são coradas pela coloração de HE. Não se realiza de rotina a IHQ para detecção de micrometástases e células tumorais isoladas.

3.5.1- Exame per-operatório do linfonodo sentinela

O método de escolha para o exame per-operatório do LS foi o *imprint* citológico nas três instituições envolvidas no estudo, que utilizam técnicas semelhantes na sua realização.

A técnica do exame per-operatório do LS pelo *imprint* citológico é descrita conforme o protocolo do HACC.

O linfonodo ou grupo de linfonodos identificado pelo cirurgião como LS é enviado ao patologista durante o ato operatório. Após a dissecação e exame de macroscopia, já descritos anteriormente, procede-se então ao *imprint* citológico propriamente dito, quando cada superfície de corte do LS previamente seccionado é pressionado em lâmina de vidro. Em seguida, cada lâmina é corada pela técnica rápida de HE. Este procedimento possibilita a visualização das

bordas do corte macroscópico do LS na representação citológica, facilitando a correlação da localização da área suspeita de macrometástase à macroscopia com os achados citológicos.

O objetivo do método per-operatório é detectar apenas macrometástases (> 2 mm) de carcinoma no LS, que permite a imediata realização do EA neste mesmo tempo cirúrgico.

No achado de células atípicas isoladas ou agrupadas, não conclusivas de macrometástase, ou ainda, observando-se alterações citológicas de possíveis diagnósticos diferenciais, tais como histiócitos reativos, endotélio tumefeito, inclusões benignas ou células névicas, prefere-se a utilização do termo “ausência de macrometástase” no resultado do exame per-operatório do LS, que posteriormente será confirmado no estudo histológico do bloco de parafina.

Em algumas instituições, como no HACC, o LS macroscopicamente comprometido poderá ser submetido ao exame de congelação, para sua confirmação diagnóstica. No entanto, a técnica de *imprint* citológico é superior ao exame de congelação na detecção de metástases e principalmente micrometástases, no exame per-operatório de linfonodos. No exame de congelação pode haver perda de material durante o corte no criótomo, comprometendo o diagnóstico de pequenas metástases.

Nos casos de *imprint* negativo, necessita-se da confirmação por exame histopatológico pela parafina, e, caso seja encontrada metástase no LS, indica-se o EA em um segundo tempo cirúrgico.

Nos casos de *imprint* positivo, que permite a imediata realização do EA como já mencionado, o LS também é enviado para exame histopatológico de confirmação na parafina. Na grande maioria dos casos é confirmada a positividade do LS e é feita a mensuração da metástase no corte histológico da parafina.

3.6 - Métodos Estatísticos

3.6.1- Descrição dos dados

As informações coletadas foram incluídas em um banco de dados desenvolvido no SPSS® e posteriormente exportadas para o Excel®. Os resultados descritivos foram obtidos utilizando frequências e porcentagens para as características das diversas variáveis categóricas e da obtenção de medidas de tendência central (média e mediana) e medidas de dispersão (desvio-padrão) para as quantitativas.

Este estudo apresenta uma variável resposta na forma categórica: esvaziamento axilar, que pode ser positivo (com pelo menos um linfonodo com metástase) ou negativo (com todos os linfonodos sem metástase).

A expressão de HER2, disponível nos bancos de dados de duas instituições envolvidas no estudo (HC-UFG e HC-USPRP), apresentou informações somente para 50 pacientes, e por isso esta variável foi apenas descritiva. Em função da falta de registros nos prontuários médicos, da dificuldade na padronização dos dados existentes e da não significância na literatura pesquisada, as variáveis história familiar e história pregressa não foram incluídas na análise estatística.

O número de linfonodos não-sentinela positivos no EA foi a variável que gerou a variável resposta e por isto também foi apenas descritiva.

Um histograma e um gráfico *box-plot* foram feitos para analisar o comportamento da idade das pacientes. No *box-plot*, os círculos indicam pacientes considerados valores extremos, ou seja, muito diferentes dos valores apresentados pelas outras pacientes (*outlier*). O início da caixa representa o primeiro quartil, ou seja, que 25% das observações estão abaixo deste valor. A

linha central representa a mediana, indicando que 50% dos valores estão acima e outros 50% abaixo deste valor. Em alguns casos este também é o valor máximo. O fim da caixa representa o terceiro quartil, que indica que 75% das observações estão abaixo deste valor.

3.6.2- Análise univariada

A presença de metástase nos linfonodos ressecados no EA (EA positivo ou EA negativo) foi comparada com as covariáveis categóricas do estudo a partir de tabelas de contingência, sendo aplicado o teste qui-quadrado com correção de Yates para comparação de proporções, quando existissem apenas duas categorias para cada variável. Caso existissem mais que duas categorias foi utilizado o teste qui-quadrado de Pearson sem correção. Na presença de pelo menos uma frequência esperada menor que 5, foi utilizado o teste exato de Fisher. A categoria considerada como referência está indicada nas tabelas de resultados com o valor 1,0 na coluna para os valores de *odds ratio* (OR). O OR só foi interpretado quando houve diferença com significância estatística, e só foi calculado quando todas as caselas foram diferentes de 0 (zero).

Na comparação da presença de metástase no EA com a idade foi utilizado o teste t-Student quando as suposições usuais do modelo (normalidade e homocedasticidade) foram atendidas. Caso contrário foi utilizado o teste de Mann-Whitney. A suposição de normalidade foi verificada através do teste Kolmogorov-Smirnov e de homocedasticidade (homogeneidade entre as variâncias) através do teste de Levene (TRIOLA, 1999).

3.6.3 Análise multivariada e construção dos nomogramas

Foi desenvolvido o modelo de regressão logística para a variável resposta positividade do EA, onde foram inicialmente incluídas todas as covariáveis com $p \leq 0,25$ na análise univariada, ou seja, aquelas que apresentam um valor de p próximo ou menor ao considerado estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$). Em seguida, as variáveis foram retiradas em um processo passo-a-passo até que o modelo final incluísse somente aquelas com significância estatística ($p \leq 0,05$). A adequação do modelo final foi verificada a partir do teste de Hosmer-Lemeshow. Posteriormente, foi obtido pelo mesmo processo um modelo alternativo incluindo também variáveis que não apresentaram significância estatística relevante neste estudo, embora com valor de p próximo a 0,05. Estas variáveis foram significativas em vários outros estudos da literatura, considerando-se também a importância clínica destas variáveis. Os modelos final e alternativo de regressão logística multivariada foram utilizados para a construção de dois nomogramas. A análise multivariada e a construção dos nomogramas foram realizadas através do *software* R, de domínio público (CHAMBERS, 2008).

3.6.4- Avaliação da acurácia dos nomogramas

Na avaliação da acurácia dos nomogramas propostos foi utilizada a curva ROC. A curva ROC expressa a relação entre a sensibilidade e a especificidade de testes. Foram construídas curvas ROC para as probabilidades preditas pelos modelos do nomograma final e

alternativo em relação à variável resposta presença de metástases em linfonodos não-sentinela no EA.

Para a construção das curvas ROC foi utilizado o *software* SPSS®.

3.6.5- Análises Complementares

Foram realizadas análises complementares para checar as relações entre determinadas variáveis de interesse, que não a variável resposta, e para comparar as amostras de cada instituição.

As comparações das covariáveis categóricas de interesse foram realizadas utilizando os mesmos testes estatísticos descritos anteriormente na análise univariada (seção 3.6.2).

Já para a comparação entre a idade e as instituições foi utilizado o teste Kruskal-Wallis, uma vez que os dados não seguem a suposição de normalidade (verificada através do teste de Kolmogorov-Smirnov) (TRIOLA, 1999).

4- RESULTADOS

4- RESULTADOS

4.1- Descrição dos dados

Das 326 pacientes com BLS positiva, 114 pacientes (35%) apresentaram metástase em pelo menos um linfonodo no EA (EA positivo) e 212 pacientes (65%) apresentaram todos os linfonodos do EA negativos (EA negativo).

A Tabela 2 apresenta a descrição das covariáveis em estudo. Nota-se maior frequência de pacientes que foram tratadas no HACC (81,9%), que estavam na pós-menopausa (54,5%), tinham estadiamento anatomopatológico T_{1c} (46%), carcinoma ductal invasor era o tipo histológico (91,7%), com grau histológico II (49,3%), grau nuclear 3 (47,8%), índice mitótico 1 (69,6%), sem invasão de vasos sanguíneos (95,8%), sem invasão de vasos linfáticos (62,9%), número total de LS igual a 1 (44,8%), LS negativos igual a 0 (59,9%), LS positivos igual a 1 (82,4%), com macrometástase (77,9%), tendo como método de detecção a HE (92,5%), número de linfonodos dissecados no EA maior que 15 (63,2%) e positivos igual a 0 (65,0%), RP e RE positivos (70,5% e 82,2%, respectivamente) e HER2 negativo (78,0%; 39/50 casos analisados).

Tabela 2: Descrição das covariáveis categóricas do estudo.

Variável	Frequência	
	n	%
Instituição		
HACC	267	81,9
HC-UFMG	46	14,1
HC-FMRP	13	4,0
Status Menopausal		
Pré-menopausa	148	45,5
Pós-menopausa	177	54,5
Sem informação	1	-
Estadiamento Anátomo-Patológico		
T1a	10	3,1
T1b	45	13,9
T1c	149	46,0
T2	112	34,6
T3	8	2,5
Sem informação	2	-
Tipo Histológico		
Carcinoma Ductal Invasor	298	91,7
Carcinoma Lobular Invasor	22	6,8
Carcinoma Tubular Invasor	2	0,6
Carcinoma Tubulo-lobular Invasor	2	0,6
Carcinoma Micropapilar Invasor	1	0,3
Sem informação	1	-
Grau Histológico		
Grau I	70	23,3
Grau II	148	49,3
Grau III	82	27,3
Sem informação	26	-
Grau Nuclear		
1	28	8,9
2	137	43,4
3	151	47,8
Sem informação	10	-
Índice Mitótico (em 10cga)		
1	218	69,6
2	55	17,6
3	40	12,8
Sem informação	13	-
Invasão de Vasos Sanguíneos		
Sim	13	4,2
Não	295	95,8
Sem informação	18	-
Invasão de Vasos Linfáticos		
Sim	115	37,1
Não	195	62,9
Sem informação	16	-

Variável	Frequência	
	n	%
Número total de LS		
1	146	44,8
2	108	33,1
3	56	17,2
4 ou +	16	4,9
Número de LS negativos		
0	181	59,9
1	82	27,2
2 ou +	39	12,9
Sem informação	24	-
Número de LS positivos		
1	253	82,4
2	47	15,3
3 ou +	7	2,3
Sem informação	19	-
Tamanho da maior metástase do LS		
Células tumorais isoladas	16	5,3
Micrometástase	51	16,8
Macrometástase	236	77,9
Sem informação	23	-
Método de Detecção		
HE	273	92,5
IHQ	22	7,5
Sem informação	31	-
Número total de linfonodos no EA		
1 a 10	34	10,4
11 a 15	86	26,4
>15	206	63,2
Número de linfonodos positivos no EA		
0	212	65,0
1 a 3	68	20,9
4 a 9	29	8,9
> 9	17	5,2
Progesterona		
Negativo	94	29,5
Positivo	225	70,5
Sem informação	7	-
Estrógeno		
Negativo	57	17,8
Positivo	263	82,2
Sem informação	6	-
HER2		
Negativo	39	78,0
Positivo	11	22,0
Sem informação	276	-

A descrição da idade das pacientes é apresentada na Tabela 3. Observa-se que as pacientes têm em média 53,1 anos, a idade mínima foi 22 e a máxima 89 anos. Cinquenta por cento das pacientes têm idade inferior a 51 anos e 50% tem idade superior a 51 anos (mediana).

Tabela 3: Descrição da idade das pacientes.

Tabela 3: Descrição da idade dos pacientes.									
Variável	n	n*	Média	D.P.	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
Idade (anos)	325	1	53,1	12,8	22,0	43,0	51,0	62,0	89,0

* Em um caso a idade não era conhecida.

O histograma da idade é apresentado na Figuras 3. Nota-se que a maior parte das pacientes tem idade entre 40 e 60 anos.

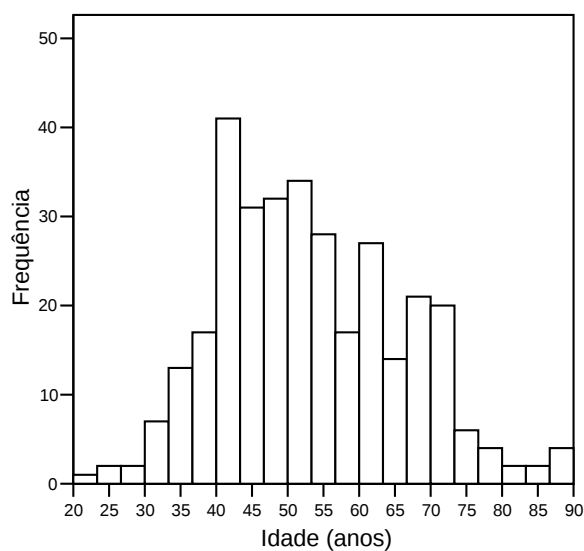


Figura 4: Histograma da idade das pacientes.

4.2- Análise univariada

A comparação entre a idade das pacientes e presença ou não de metástases no EA (EA positivo ou EA negativo) é apresentada na Tabela 4. Não se observa diferença com significância estatística nesta comparação, ou seja, a idade das pacientes com EA positivo não difere da idade das pacientes com EA negativo.

Tabela 4: Comparação entre a idade das pacientes e a presença de metástases no esvaziamento axilar (EA positivo ou EA negativo).

Esvaziamento axilar										
Covariável	Positivo					Negativo				Valor-p
	n	n*	Média	DP	Mediana	n	Média	DP	Mediana	
Idade (anos)	113	1	53,1	13,0	50,0	212	53,1	12,8	52,0	0,988 ₁

1: Teste t-Student. * Em um caso a idade não era conhecida.

As comparações entre o acometimento de linfonodos não-sentinela no EA e as covariáveis categóricas são apresentadas na Tabela 5. As covariáveis estadiamento anatomopatológico, tipo histológico, número de LS negativos e LS positivos foram comparadas usando duas categorizações, indicadas por 1) e 2).

A covariável estadiamento anatomopatológico corresponde de forma categórica ao tamanho tumoral em centímetros, pois neste estudo foram incluídos apenas tumores com estadiamento $T_{1a}(\leq 0,5\text{cm})$, $T_{1b}(> 0,5-1,0\text{cm})$, $T_{1c}(> 1,0-2,0\text{cm})$, $T_2(> 2,0-5,0\text{cm})$ e $T_3(> 5,0\text{cm})$. Esta covariável não apresentou diferença com significância estatística no presente estudo.

Observa-se diferença com significância estatística na comparação com número de LS negativos, LS positivos, tamanho da metástase e método de detecção ($p \leq 0,05$).

Como exemplo de interpretação, considerando a segunda categorização do número de LS negativos, tem-se que entre as 110 pacientes com EA positivo, 77 pacientes (70,0%) não apresentam nenhum LS negativo e 33 pacientes (30,0%) apresentam um ou mais LS negativos. Entre as 192 pacientes com EA negativo, 104 pacientes (54,2%) não apresentam nenhum LS negativo e 88 pacientes (45,8%) apresentam um ou mais LS negativos. O valor de p igual a 0,010 indica associação entre o número de LS negativos dissecados e a presença de metástases em linfonodos não-sentinela no EA. O valor do OR indica que os pacientes que não apresentaram nenhum LS negativo, ou seja, pacientes em que todos os LS dissecados apresentaram metástases têm maior chance de apresentar EA positivo ($OR = 2,0$) do que aqueles com um ou mais LS negativos. O valor 1,0 indica que a categoria de pacientes com um ou mais LS negativos foi tomada como referência.

O método de detecção da metástase do LS apresentou significância estatística em relação à probabilidade de metástase no EA ($p < 0,001$). Todos os casos de EA positivo a metástase no LS foi confirmada em cortes histológicos corados pela HE. Em todos os casos em que a metástase do LS foi identificada apenas pela IHQ não foram identificadas metástases nos linfonodos não-sentinela do EA.

Obteve-se ainda um valor de p de 0,075, na comparação da presença de metástases no EA com a presença de invasão de vasos linfáticos. Embora não estatisticamente significativa, esta variável apresentou um valor de p inferior a 0,25 e foi incluída na análise multivariada para verificar se as pacientes com invasão de vasos linfáticos apresentam maior chance de metástases no EA quando comparadas com as pacientes sem esta característica.

Tabela 5: Comparação entre as covariáveis categóricas do estudo e a presença de metástases no esvaziamento axilar.

Covariável	Esvaziamento axilar				p	OR	IC95%
	Positivo		Negativo				
	N	%	N	%			
Instituição							
HACC	92	80,7	175	82,5	0,913 ¹	0,9	0,5 a 1,8
HC-UFMG	17	14,9	29	13,7		1,0	
HC-USPRP	5	4,4	8	3,8		1,1	0,3 a 4,4
Status Menopausal							
Pré-menopausa	51	45,1	97	45,8	0,992 ²	1,0	0,6 a 1,6
Pós-menopausa	62	54,9	115	54,2		0,1	
Estadiamento Anatomopatológico							
1) T1a	1	0,9	9	4,3	0,487 ³	0,2	0,01 a 3,1
T1b	16	14,1	29	13,7		0,9	0,2 a 5,7
T1c	50	44,3	99	46,9		4,6	0,6 a 98,4
T2	43	38,1	69	32,7		1,0	0,2 a 5,8
T3	3	2,6	5	2,4		1,0	
2) T1	67	59,3	137	64,9	0,379 ²	0,8	0,5 a 1,3
T2 e T3	46	40,7	74	35,1		1,0	
Tipo Histológico							
1) Ca Ductal Invasor	103	91,2	195	92,0	0,586 ³	1,0	
Ca Lobular Invasor	8	7,0	14	6,6		1,1	0,4 a 2,9
Ca Tubular Invasor	0	0,0	2	0,9		...	...
Ca Tubulo-lobular Invasor	1	0,9	1	0,5		1,9	0,0 a 67,0
Ca Micropapilar Invasor	1	0,9	0	0,0		...	...
2) Ca Ductal Invasor	103	91,2	195	92,0	0,962 ²	0,9	0,4 a 2,2
Outros	10	8,8	17	8,0		1,0	
Grau Histológico							
Grau I	24	22,2	46	24,0	0,793 ¹	1,0	
Grau II	52	48,2	96	50,0		1,0	0,6 a 2,0
Grau III	32	29,6	50	26,0		1,2	0,6 a 2,5
Grau Nuclear							
1	6	5,5	22	10,7	0,277 ¹	1,0	
2	51	46,4	86	41,7		2,2	0,8 a 6,5
3	53	48,1	98	47,6		2,1	0,7 a 6,0
Índice Mitótico (em 10cga)							
1	74	66,7	144	71,3	0,685 ¹	1,0	
2	21	18,9	34	16,8		1,2	0,6 a 2,3
3	16	14,4	24	11,9		1,3	0,6 a 2,7
Invasão de Vasos Sanguíneos							
Sim	5	4,8	8	3,9	0,768 ³	1,2	0,3 a 4,3
Não	99	95,2	196	96,1		1,0	

Covariável	Esvaziamento axilar				p	OR	IC95%
	Positivo		Negativo				
	n	%	n	%			
Invasão de Vasos Linfáticos							
Sim	47	44,3	68	33,3	0,075²	1,6	1,0 a 2,7
Não	59	55,7	136	66,7		1,0	
Número total de LS							
1	57	50,0	89	42,0	0,494 ¹	1,0	4,2 a 46,7
2	34	29,8	74	34,9		13,3	
3	19	16,7	37	17,4	0,8	0,4 a 1,6	
4 ou +	4	3,5	12	5,7	0,5	0,1 a 1,9	
Número de LS negativos							
1) 0	77	70,0	104	54,2	0,016¹	1,0	0,2 a 0,8
1	20	18,2	62	32,3		0,4	
2 ou +	13	11,8	26	13,5	0,7	0,3 a 1,5	
2) 0	77	70,0	104	54,2	0,010²	2,0	1,2 a 3,4
1 ou +	33	30,0	88	45,8		1,0	
Número de LS positivos							
1) 1	83	74,1	170	87,2	0,001³	1,0	1,3 a 5,0
2	26	23,2	21	10,7		2,5	
3 ou +	3	2,7	4	2,1	1,5	0,3 a 8,4	
2) 1	83	74,1	170	87,2	0,006²	1,0	1,3 a 4,5
2 ou +	29	25,9	25	12,8		2,4	
Tamanho da metástase							
Células tumorais isoladas	1	1,0	15	7,6	<0,001¹	1,0	0,4 a 82,8
Micrometástase	10	9,5	41	20,7		3,7	
Macrometástase	94	89,5	142	71,7		9,3	
Método de Detecção							
HE	104	100,0	169	88,5	<0,001²	...	...
IHQ	0	0,0	22	11,5		1,0	
Número total de linfonodos no EA							
1 a 10	7	6,1	27	12,7	0,114 ¹	0,4	0,2 a 1,1
11 a 15	28	24,6	58	27,4		0,8	0,4 a 1,4
>15	79	69,3	127	59,9		1,0	
RP							
Negativo	34	30,6	60	28,9	0,838 ²	1,1	0,6 a 1,9
Positivo	77	69,4	148	71,2		1,0	
RE							
Negativo	18	16,1	39	18,8	0,657 ²	0,8	0,4 a 1,6
Positivo	94	83,9	169	81,2		1,0	

1: Teste Qui-Quadrado sem correção; 2: Teste qui-quadrado com correção de Yates;

3: Teste Exato de Fisher. Os valores p significativos estão em negrito.

4.3- Análise multivariada

As covariáveis invasão de vasos linfáticos, número de LS negativos, número de LS positivos, tamanho da maior metástase do LS (com duas categorias), método de detecção da metástase do LS e número total de linfonodos no EA apresentaram valor de p inferior a 0,25 e foram inicialmente incluídas no modelo multivariado.

Observa-se que as covariáveis presentes no modelo final de regressão logística foram: número de LS negativos e número de LS positivos. O modelo final é apresentado na Tabela 6. Observa-se que as pacientes com macrometástase, sem LS negativos e com dois ou mais LS positivos têm maior chance de apresentar EA positivo do que as pacientes sem estas características (OR igual a 3,3, 2,0 e 2,5, respectivamente).

Tabela 6: Modelo final de regressão logística para presença de metástases no esvaziamento axilar.

Modelo	Coefficiente	Erro-padrão	Valor-p	OR	IC95% Inferior Superior	
Constante	-3,4	0,8	<0,001			
Tamanho da maior metástase do LS						
>2 mm	1,2	0,4	0,003	3,3	1,5	7,2
≤2 mm				1,0		
Número de LS negativos						
0	0,7	0,3	0,011	2,0	1,2	3,4
1 ou +				1,0		
Número de LS positivos						
2 ou +	0,9	0,3	0,005	2,5	1,3	4,8
1				1,0		

Um modelo de regressão logística alternativo é apresentado na Tabela 7. Neste modelo foi incluída a invasão de vasos linfáticos. Observa-se que no modelo alternativo as pacientes com macrometástase, sem LS negativos, com dois ou mais LS positivos e com invasão dos vasos linfáticos têm maior chance de apresentar EA positivo do que as pacientes sem estas características (OR igual a 4,9, 2,3, 2,1 e 1,6 respectivamente).

Tabela 7: Modelo alternativo de regressão logística para presença de metástases no esvaziamento axilar.

Modelo	Coefficiente	Erro-padrão	Valor-p	OR	IC95%	
					Inferior	Superior
Constante	-4,4	1,0	<0,001			
Tamanho da maior metástase do LS						
>2 mm	1,6	0,5	0,002	4,9	1,8	13,3
≤2 mm				1,0		
Número de LS negativos						
0	0,8	0,3	0,004	2,3	1,3	4,0
1 ou +				1,0		
Número de LS positivos						
2 ou +	0,7	0,4	0,040	2,1	1,0	4,1
1				1,0		
Invasão de vasos linfáticos						
Sim	0,5	0,3	0,085	1,6	0,9	2,8
Não				1,0		

Tabela 8: Valor-p das covariáveis do modelo multivariado de regressão logística.

Covariável	Modelos				Final	Alternativo
		Valor-p				
Invasão de vasos linfáticos	0,101	X	0,085	X	X	0,085
Número de LS negativos	0,004	0,011	0,004	0,009	0,011	0,004
Número de LS positivos	0,043	0,005	0,040	0,005	0,005	0,040
Tamanho da maior metástase do LS	0,012	0,003	0,002	0,066	0,003	0,002
Método de detecção	0,367	X	X	0,146	X	X

X: Sem significância estatística.

4.4- Análises complementares

Semelhante ao apresentado na análise univariada, as covariáveis: estadiamento anatomopatológico, tipo histológico, número de LS positivos foram avaliadas pelas duas formas de agrupamento indicadas por 1) e 2).

As comparações entre as instituições envolvidas no estudo e o estadiamento anatomopatológico, tipo histológico, número total de LS, método de detecção e *status* menopausal são apresentadas na Tabela 9. Observa-se diferença com significância estatística na comparação com tipo histológico (categorização 1) e número total de LS ($p \leq 0,05$). Observa-se ainda valor de $p \leq 0,10$ na comparação com a segunda categorização do tipo histológico ($p = 0,066$).

Tabela 9: Comparação entre as instituições de origem e covariáveis de interesse.

Covariável	Instituição						Valor-p
	HC-UFG		HACC		HC-USPRP		
	n	%	n	%	n	%	
Estadiamento Anatomopatológico							
1) T1a	3	6,7	7	2,6	0	0,0	0,275 ³
T1b	5	11,1	40	15,0	0	0,0	
T1c	19	42,2	121	45,5	9	69,2	
T2	15	33,3	93	35,0	4	30,8	
T3	3	6,7	5	1,9	0	0,0	
2) T1	27	60,0	168	63,2	9	69,2	0,833 ³
T2 e T3	18	40,0	98	36,8	4	30,8	
Tipo Histológico							
1) Ca Ductal Invasor	38	82,6	247	92,9	13	100,0	0,002³
Ca Lobular Invasor	3	6,5	19	7,1	0	0,0	
Ca Tubular Invasor	2	4,3	0	0,0	0	0,0	
Ca Tubulo-lobular Invasor	2	4,3	0	0,0	0	0,0	
Ca Micropapilar Invasor	1	2,2	0	0,0	0	0,0	
2) Ca Ductal Invasor	38	82,6	247	92,9	13	13,0	0,066 ³
Outros	8	17,4	19	7,1	0	0,0	
Número total de LS							
1	12	26,1	130	48,7	4	30,8	0,022³
2	17	37,0	85	31,8	6	46,2	
3	15	32,6	39	14,6	2	15,4	
4 ou +	2	4,3	13	4,9	1	7,7	
Número total de linfonodos no EA							
1 a 10 LFN	9	19,5	23	8,6	2	15,4	0,216 ³
11 a 15 LFN	17	37,0	67	25,1	2	15,4	
>15 LFN	20	43,5	117	66,3	9	69,2	
Status Menopausal							
Pré-menopausa	19	41,3	122	45,9	7	53,8	0,703 ¹
Pós-menopausa	27	58,7	144	54,1	6	46,2	

1: Teste Qui-Quadrado de Pearson; 3: Teste Exato de Fisher.

Os valores p significativos estão em negrito.

A descrição da idade das pacientes estratificada por instituição é apresentada na Tabela 10. Não se observa diferença com significância estatística nesta comparação, ou seja, não há diferença nas idades das pacientes dos três hospitais.

Tabela 10: Descrição da idade das pacientes por instituição.

Variável	n	n*	Média	D.P.	Mínimo	1º quartil	Mediana	3º quartil	Máximo	Valor-p
HC-USPRP	13	0	53,8	16,7	32,0	42,5	51,0	66,0	82,0	0,933 ¹
HC-UFG	46	0	53,7	12,4	33,0	43,0	52,5	62,5	79,0	
HACC	266	1	52,9	12,7	22,0	43,0	51,0	62,3	89,0	

1: Teste de Kruskal-Wallis.

O *box-plot* da idade estratificada por instituição é apresentado na figura 5. Interpretando o *box-plot* do HC-UFG, 25% das pacientes têm idade menor que 43 anos, 50% das pacientes têm idade menor que 52,5 anos e 75% das idades são inferiores a 62,5 anos. Observa-se a presença de duas pacientes com idade bem maior que as demais e uma paciente com idade menor que as demais no HC-USPRP.

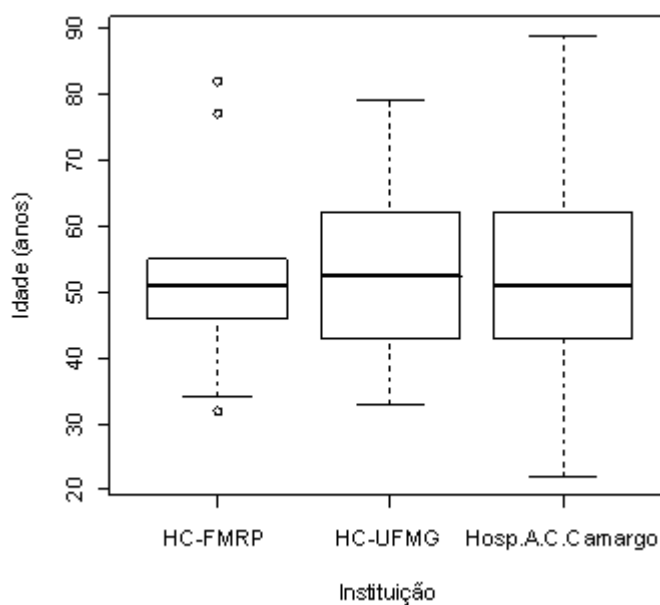


Figura 5: Box-plot da idade dos pacientes estratificada por instituição.

As comparações entre a invasão de vasos linfáticos e estadiamento anátomo-patológico, número de LS positivo e número total de linfonodos no EA são apresentadas na Tabela 11. Observa-se diferença com significância estatística ($p \leq 0,05$) apenas na comparação com o estadiamento anátomo-patológico nas duas categorizações.

Tabela 11: Comparação entre presença de invasão de vasos linfáticos e covariáveis de interesse.

Covariável		Invasão de vasos linfáticos				Valor-p	OR	IC95%
		Sim		Não				
		n	%	n	%			
Estadiamento Anatomopatológico								
1)	T1a	0	0,0	8	4,1	0,001³	...	...
	T1b	7	6,1	37	19,1		0,2	0,1 a 0,6
	T1c	53	46,1	86	44,3		0,7	0,4 a 1,2
	T2	51	44,3	59	30,4		1,0	
	T3	4	3,5	4	2,1		1,2	0,2 a 5,9
2)	T1	60	52,2	131	67,5	0,010²	1,0	
	T2 e T3	55	47,8	63	32,5		1,9	1,2 a 3,2
Número de LS positivos								
1)	1	87	80,6	155	84,7	0,354 ¹	1,0	
	2	20	18,5	24	13,1		1,5	0,7 a 3,0
	3 ou +	1	0,9	4	2,2		0,5	0,02 a 4,3
2)	1	87	80,6	155	84,7	0,453 ²	1,0	
	2 ou +	21	19,4	28	15,3		1,3	0,7 a 2,6
Número total de linfonodos no EA								
	1 a 10 LFN	14	12,2	18	9,2	0,697 ¹	1,3	0,6 a 3,0
	11 a 15 LFN	29	25,2	53	27,2		0,9	0,5 a 1,7
	>15 LFN	72	62,6	124	63,6		1,0	

1: Teste Qui-Quadrado de Pearson; 2: Teste Qui-Quadrado com correção de Yates; 3: Teste Exato de Fisher. Os valores p significativos estão em negrito.

As Tabelas 12 e 13 apresentam as comparações do estadiamento anatomopatológico e do tipo histológico com o número de LS positivos considerando as duas categorizações. Observou-se diferença com significância estatística na comparação com o tipo histológico na primeira categorização (Tabela 13).

Tabela 12: Comparação entre número de linfonodos sentinela positivos (três categorias) e covariáveis de interesse.

Covariável	Número de Linfonodos Sentinela Positivos						Valor-p
	1		2		3 ou +		
	n	%	n	%	n	%	
Estadiamento Anatomopatológico							
1) T1a	9	3,6	1	2,2	0	0,0	0,980 ³
T1b	36	14,3	7	15,2	0	0,0	
T1c	113	44,8	21	45,7	3	43,9	
T2	88	34,9	16	34,8	4	57,1	
T3	6	2,4	1	2,2	0	0,0	
2) T1	158	62,7	29	63,1	3	43,9	0,615 ³
T2 e T3	94	37,3	17	36,9	4	57,1	
Tipo Histológico							
1) Ca Ductal Invasor	231	91,7	41	87,2	7	100,0	0,068 ³
Ca Lobular Invasor	19	7,5	3	6,4	0	0,0	
Ca Tubular Invasor	2	0,8	0	0,0	0	0,0	
Ca Tubulo-lobular Invasor	0	0,0	2	4,3	0	0,0	
Ca Micropapilar Invasor	0	0,0	1	2,1	0	0,0	
2) Ca Ductal Invasor	231	91,7	41	87,2	7	100,0	0,537 ³
Outros	21	8,3	6	12,8	0	0,0	
Tamanho da maior metástase do LS							
Células tumorais isoladas	8	3,4	0	0,0	0	0,0	0,147 ³
Micrometástase	35	15,0	4	9,1	3	42,9	
Macrometástase	191	81,6	40	90,9	4	57,1	

3: Teste Exato de Fisher.

Tabela 13: Comparação entre número de linfonodos sentinela positivos (duas categorias) e covariáveis de interesse.

Covariável	Número de LS Positivos				Valor- p	OR	IC95%
	1		2 ou +				
	n	%	n	%			
Estadiamento							
Anatomopatológico							
1) T1a	9	3,6	1	0,9	0,992 ³	1,9	0,2 a 87,2
T1b	36	14,3	7	6,6		1,2	0,4 a 3,3
T1c	113	44,8	24	22,6		1,0	
T2	88	34,9	20	18,9		0,9	0,5 a 1,1
T3	6	2,4	1	0,9		1,3	0,1 a 61,0
2) T1	158	62,7	32	30,2	0,872 ²	1,1	0,6 a 2,1
T2 e T3	94	37,3	21	19,8		1,0	
Tipo Histológico							
1) Ca Ductal Invasor	231	91,7	48	44,4	0,023³	1,0	
Ca Lobular Invasor	19	7,5	3	2,8		1,3	0,4 a 5,8
Ca Tubular Invasor	2	0,8	0	0,0		...	...
Ca Tubulo-lobular Invasor	0	0,0				...	...
			2	1,9			
Ca Micropapilar Invasor	0	0,0	1	0,9	0,596 ³	...	...
2) Ca Ductal Invasor	231	91,7	48	44,4		1,4	0,5 a 3,9
Outros	21	8,3	6	5,6		1,0	
Tamanho da maior metástase do LS							
Células tumorais isoladas	8	3,4	0	0,0	0,499 ³	...	...
Micrometástase	35	15,0	7	13,7		1,2	0,5 a 3,1
Macrometástase	191	81,6	44	86,3		1,0	

2: Teste Qui-Quadrado com correção de Yates; 3: Teste Exato de Fisher.

Os valores p significativos estão em negrito.

A comparação entre o método de detecção e o tamanho da maior metástase do LS é apresentada na Tabela 14. Observa-se diferença com significância estatística nesta comparação ($p \leq 0,05$).

Tabela 14: Comparação entre método de detecção e tamanho da maior metástase do linfonodo sentinela.

Covariável	Método de detecção				Valor- p	OR	IC95%
	HE		IHQ				
	n	%	n	%			
Tamanho da maior metástase do LS							
Células tumorais isoladas	3	1,1	9	45,0	<0,001 ³	1,0	
Micrometástase	36	13,5	8	40,0		13,5	2,5 a 83,5
Macrometástase	227	85,3	3	15,0		227,0	32,5 a 2102,5

3: Teste Exato de Fisher.

Os valores p significativos estão em negrito.

4.5- Construção dos nomogramas

O grupo de estudo para a construção dos nomogramas consistiu de 326 pacientes com BLS positiva submetidas ao EA, sendo 35% com metástase em linfonodos não-sentinela (EA positivo) e 65% sem metástase em linfonodos não-sentinela (EA negativo).

O primeiro passo para a construção do nomograma foi identificar as características associadas com a presença de metástases em linfonodos não-sentinela no EA. Isto foi realizado através da análise univariada e posteriormente do modelo de regressão logística multivariado. Neste processo foram obtidos dois modelos, um final (considerando nível de significância de 0,05) e outro alternativo (com nível de significância de 0,10). No modelo final estão presentes as características: número de LS negativos ($p = 0,011$), número de LS positivos ($p = 0,005$) e tamanho da maior metástase do LS ($p = 0,003$). No modelo alternativo além destas variáveis (com valores de p iguais a 0,004, 0,040 e 0,002, respectivamente) está presente também a invasão de vasos linfáticos ($p = 0,085$).

Dois nomogramas, que incorporaram estas variáveis, foram construídos para estimar a probabilidade de apresentar metástases em linfonodos não-sentinela no EA. O modelo final incluiu somente variáveis com nível de significância inferior a 0,05 e um modelo alternativo incluiu também a invasão de vasos linfáticos ($p = 0,085$). Eles consistem em pontuar a presença de cada característica e, ao final, estes pontos são somados e convertidos em probabilidades.

O *software* R empregado neste estudo considera o ponto (.) no lugar da vírgula (,) para designar decimal.

4.5.1- Nomograma - Modelo Final

A Figura 6 apresenta o nomograma considerando o modelo final.

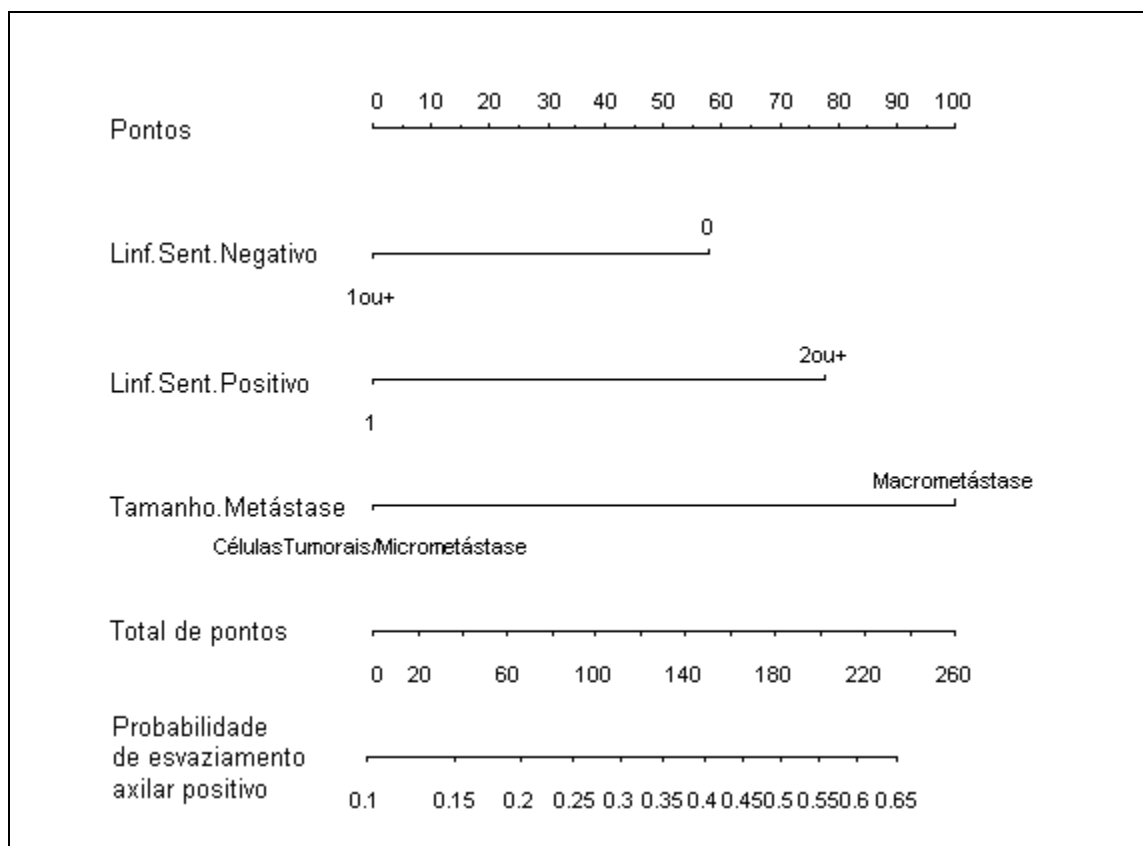


Figura 6: Nomograma para o modelo final.

A título de ilustração, considere que uma paciente não tenha apresentado LS negativos (57 pontos), tenha um LS positivo (0 ponto) na BLS e que neste LS tenha sido identificada uma metástase de 2,3mm, ou seja, uma macrometástase (100 pontos). Somando as parciais, esta paciente tem 157 pontos. Assim, tem-se 43% de probabilidade de apresentar metástases nos linfonodos não sentinela (EA positivo) (Figura 7).

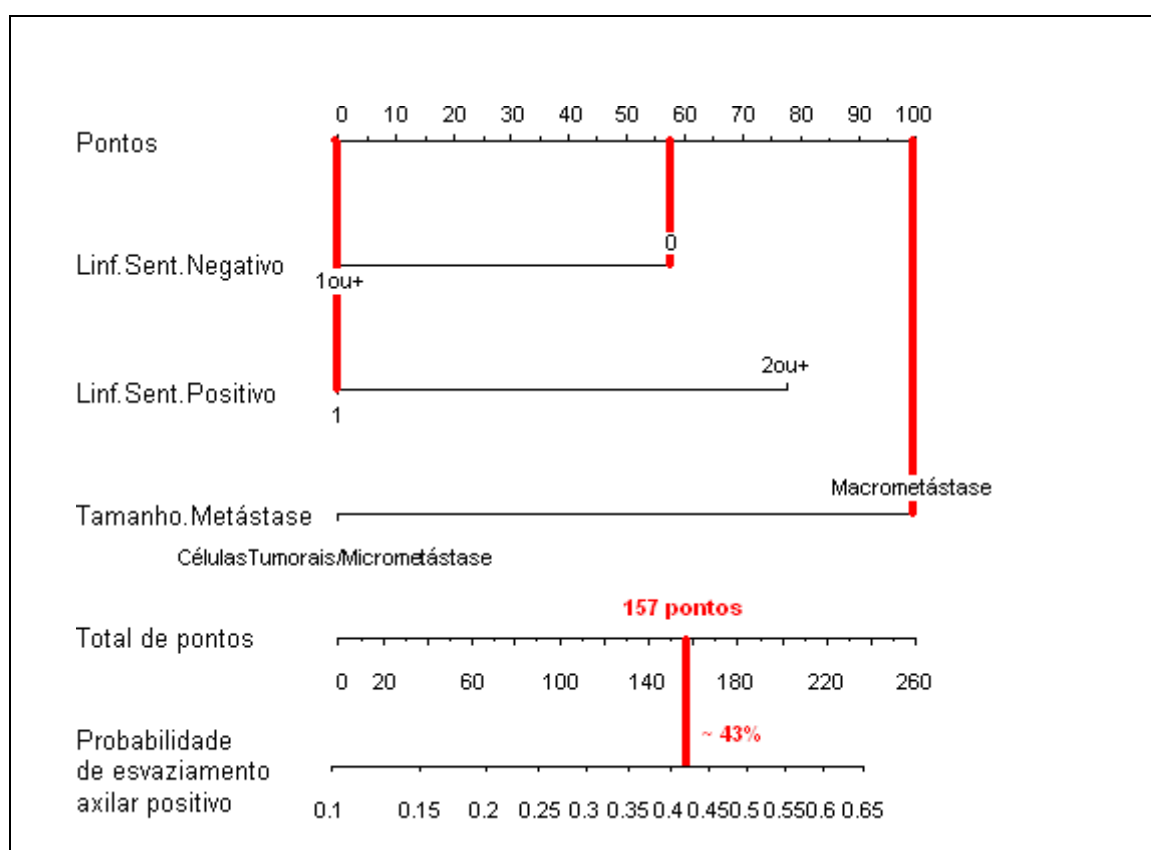


Figura 7: Nomograma para o modelo final - exemplo.
Neste nomograma atribuíram-se pontos para cada variável analisada.

4.5.2- Nomograma - Modelo Alternativo

A Figura 8 apresenta o nomograma considerando o modelo alternativo.

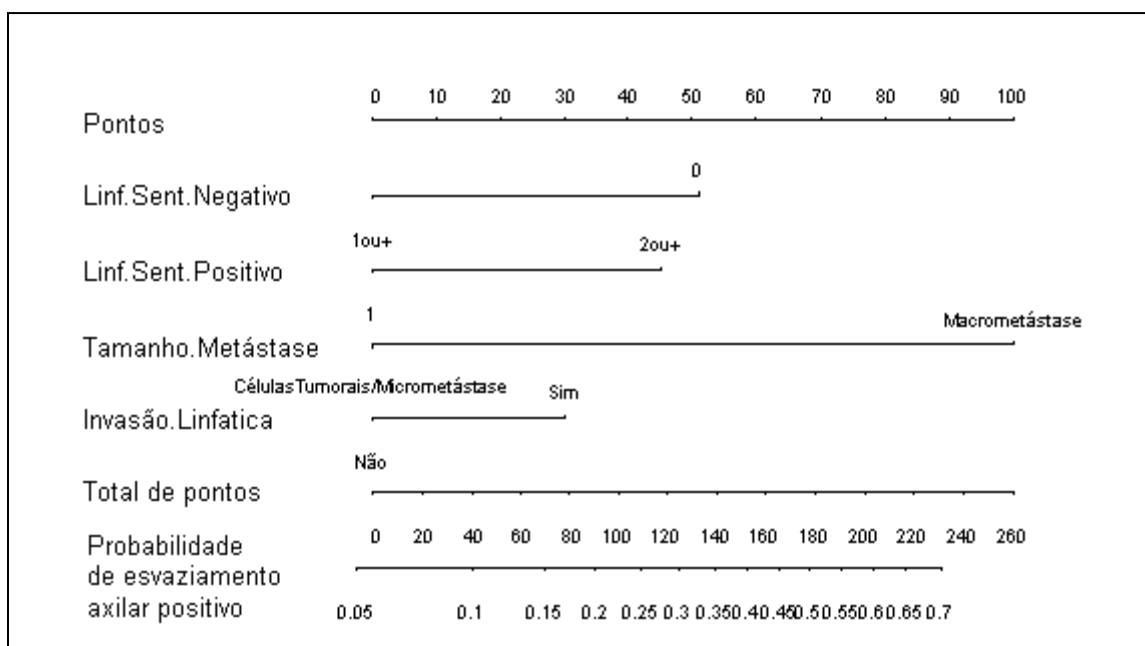


Figura 8: Nomograma para o modelo alternativo

A título de ilustração, neste modelo alternativo uma paciente cuja BLS tenha resultado em três LS negativos (0 pontos) e apenas um LS positivo (0 pontos) para micrometástase (0 pontos) e que o tumor primário tenha apresentado invasão de vasos linfáticos (30 pontos). Somando as parciais, tem-se 30 pontos. Assim, esta paciente tem aproximadamente 8% de probabilidade de ter algum linfonodo não sentinela acometido por metástase no EA (EA positivo).

5- DISCUSSÃO

5- DISCUSSÃO

No presente trabalho avaliamos fatores de risco para envolvimento dos linfonodos não sentinela em pacientes com LS positivo. A percentagem de pacientes com câncer de mama de nossa série que apresentaram BLS positiva e ausência de metástases nos linfonodos não-sentinela foi de 65% e corresponde ao encontrado na literatura (40-70%) (VAN ZEE, 2003; HWANG, 2003; KOHRT, 2008; GUILLO, 2009).

De uma forma geral, as amostras populacionais das três instituições envolvidas no nosso estudo foram semelhantes, mas apresentaram algumas diferenças que não comprometeram o valor da análise estatística. A idade das pacientes foi semelhante nas três instituições. A diferença no número de casos estudados por instituição deveu-se à discrepância na capacidade de atendimento de pacientes e às diferentes datas de início da realização rotineira da BLS em cada serviço. Alguns intervalos de confiança obtidos na análise estatística foram amplos e poderiam refletir heterogeneidade da amostra em relação a algumas características. Por exemplo, a inclusão de apenas oito pacientes com estadiamento T3, um número reduzido de casos com quatro ou mais LS ressecados e apenas cinco pacientes com tipos especiais de carcinomas mamários (não ductais invasores), podem ter ocasionado intervalos de confiança amplos.

As pacientes com BLS positiva avaliadas pelos diversos modelos matemáticos de predição do acometimento de linfonodos não-sentinela propostos na literatura, principalmente nos estudos de validação, também formavam grupos populacionais heterogêneos (KOHRT, 2008; COUTANT, 2008; COUFAL, 2009). Considerando-se a finalidade de aplicação de nosso nomograma e dos modelos propostos na literatura em grupos populacionais diferentes da amostra

utilizada para construção de cada um destes modelos, a possível heterogeneidade da amostra poderia até mesmo contribuir para ampliar a relevância destes resultados para pacientes de outras populações.

Como objetivamos que o nomograma proposto em nosso estudo possa ser utilizado em diferentes populações, a utilização de grupos populacionais de três diferentes instituições para sua construção, além do aumento do número de casos, visou também ter variabilidade amostral dentro da população brasileira, diminuindo a possibilidade de ocorrência de vieses. A utilização de métodos semelhantes, mas não idênticos, na técnica de realização da BLS e na análise anatomopatológica dos LS nas três instituições envolvidas no estudo colabora para esta variabilidade.

Os critérios para indicação da BLS nas três instituições foram semelhantes e sofreram poucas modificações durante os períodos avaliados, praticamente resumindo-se à ampliação de indicação da BLS nos últimos anos para pacientes com tumores de maiores dimensões. Apesar da indicação da BLS em pacientes com diagnóstico de carcinoma ductal *in situ* (CDIS) extenso e que são tratados com mastectomia ser atualmente aceita em diversos centros, optamos por excluir os casos de CDIS puros. Havia discrepância entre o número de casos de CDIS entre as instituições de nossa série, o que poderia criar um viés na interpretação dos resultados.

A técnica de realização da BLS foi semelhante e sofreu poucas alterações durante o período do nosso estudo nas três instituições. No entanto, os métodos de análise histopatológica foram diferentes. As taxas de positividade da BLS foram semelhantes no HC-UFMG (30,6%) e no HACC (27,5%), ambas superiores à encontrada no HC-USPRP (19,7%). Mesmo com a utilização de cortes semi-seriados e conseqüente exame de maior número de secções histológicas no HACC, a taxa de detecção de metástases nos LS foi semelhante à do HC-UFMG. Neste

serviço emprega-se apenas um corte histológico por bloco de parafina, mas realiza-se exame IHQ complementar em todos os casos em que o exame inicial de rotina foi negativo. A taxa de detecção de metástases nos LS foi nitidamente mais baixa no HC-USPRP (19,7%), provavelmente por realizarem apenas um corte histológico e este não ser complementado pela IHQ nos casos negativos no exame inicial.

Houve diferença entre as instituições em relação ao número de LS ressecados em cada paciente durante a BLS. No HC-UFMG a maioria das pacientes teve 2 ou 3 LS ressecados, enquanto no HACC e HC-USPRP apenas 1 ou 2 LS.

O tipo histológico presente na maior parte de nossos casos foi o carcinoma ductal invasor (91,7%), seguido pelo carcinoma lobular invasor (6,8%) e por outros tipos especiais (1,5%). O número de casos de cada tipo histológico apresentou diferenças expressivas entre as instituições. Todos os 13 casos provenientes do HC-USPRP foram de carcinoma ductal invasor. Todos os cinco casos de tipos especiais de carcinomas mamários foram provenientes do HC-UFMG. A identificação de tipos especiais no HC-UFMG poderia refletir maior experiência no diagnóstico de tipos histológicos especiais nesta instituição em relação às demais. No entanto, a discrepância no número de casos de tipos histológicos especiais não interferiu nos resultados finais ou na construção do nomograma. Esta variável não apresentou significância estatística nas análises uni ou multivariada quando comparada à presença de metástases em linfonodos não-sentinela no EA, mesmo quando estes casos foram excluídos.

5.1- Tamanho da metástase do linfonodo sentinela e método de detecção

A maior parte das pacientes analisadas em nossa série apresentou macrometástases nos LS (77,9%), com frequência superior à encontrada nos principais estudos pesquisados na literatura: HWANG, 2003 (70,2%); VIALE, 2005 (64,7%); BARRANGER, 2005 (49,3%); KOHRT, 2008 (7,4%). Optamos por agrupar os casos de micrometástases e células tumorais isoladas no LS em um mesmo grupo e compará-lo com os casos de macrometástases na predição do risco de acometimento dos linfonodos não-sentinela, em função de nossa série ter apresentado somente 16 casos (5,3%) com células tumorais isoladas. Apenas alguns estudos consideraram as células tumorais isoladas em suas casuísticas. Os estudos de VIALE, 2005 e KOHRT, 2008 encontraram células tumorais isoladas em respectivamente 9,5% e 22,5% dos casos. É possível que a inclusão de casos em estádios mais avançados (T₃) em nosso estudo pode ter contribuído para estas diferenças de frequências de macrometástases e células tumorais isoladas. Outra diferença é o uso rotineiro do estudo imuno-histoquímico em vários centros internacionais, enquanto em nosso estudo, uma das instituições (HC-USPRP) não realizava IHQ de forma rotineira, mas o número de casos oriundos desta instituição representou apenas uma pequena parcela de nossa casuística.

Deve-se considerar que, de acordo com o *guideline* da ASCO publicado em 2005, o EA não é recomendado se apenas células tumorais isoladas são encontradas no LS, pois a probabilidade de metástases adicionais em linfonodos não-sentinela nestes casos seria muito baixa (LYMAN, 2005). A chance de acometimento de linfonodos não-sentinela em pacientes com células tumorais isoladas no LS varia de 4,7 a 15% na literatura (CSERNI, 2004; CALHOUN, 2005; BOLSTER, 2007; KOHRT, 2008) e foi de 6,3% em nosso estudo.

Entretanto, estudos mais recentes têm mostrado que a distinção entre células tumorais isoladas e micrometástases é muitas vezes difícil e de significado prognóstico limitado e ainda controverso na literatura (TURNER, 2008; DE MASCAREL, 2008; COUFAL, 2009).

Quando comparamos pacientes com metástases ≤ 2 mm (micrometástases e células tumorais isoladas) com metástases > 2 mm (macrometástases) nos LS, obtivemos resultados concordantes com a maioria dos estudos da literatura que mostraram que o tamanho da maior metástase no LS é o principal fator de risco para a presença de metástases em linfonodos não-sentinela no EA. Esta variável foi incluída em nosso nomograma e nos nomogramas de Mayo, de Cambridge e de Stanford e também no escore de Tenon (DEGNIM, 2005; PAL, 2008; KORHT, 2008; BARRANGER, 2005).

De acordo com a análise multivariada de nosso estudo, pacientes nas quais foram identificadas macrometástases nos LS apresentaram risco quase 5 vezes maior (OR 4,9) de apresentar metástases em linfonodos não-sentinela no EA quando comparadas às pacientes com micrometástases ou células tumorais isoladas.

Todos os 22 casos em que as metástases dos LS foram identificadas somente pela IHQ não apresentaram metástases em linfonodos não-sentinela no EA, tendo representado uma diminuição do risco nestes casos pela análise univariada ($p < 0,001$). No entanto, após a análise estatística multivariada, observou-se que o método de detecção relacionava-se indiretamente com o tamanho da maior metástase do LS, sendo esta última variável na realidade o fator determinante do risco de metástases em linfonodos não-sentinela. Ou seja, a maior parte das metástases identificadas somente pela IHQ eram micrometástases ou células tumorais isoladas, diminuindo assim o risco de metástases nos linfonodos não-sentinela. Na literatura, o nomograma do MSKCC foi o único modelo que incluiu o método de detecção no modelo

matemático proposto e comparou exame de corte-congelação do LS com HE de rotina, cortes seriados corados pela HE e IHQ, tendo sido observada diferença estatisticamente significativa nos três métodos em relação ao risco de metástases em linfonodos não-sentinela. No entanto, como o estudo do MSKCC não avaliou o tamanho da metástase do LS, poderíamos inferir que a avaliação do método de detecção poderia refletir indiretamente a influência do tamanho da metástase no risco de acometimento dos linfonodos não-sentinela, de forma semelhante ao ocorrido em nosso estudo.

Não há consenso na literatura sobre a melhor técnica de análise anatomopatológica e sobre o uso rotineiro da IHQ nos LS. Houve variação entre as três instituições participantes de nosso estudo. A literatura relata que a utilização rotineira de técnicas de IHQ aumenta a taxa de detecção de micrometástases e células tumorais isoladas que não seriam identificadas pela HE (metástases ocultas), tanto no estudo do LS como dos demais linfonodos do EA (GRAY, 2004; MARINHO, 2006; MARINHO, 2008; SALLES, 2009). Em nosso estudo metástases ocultas foram identificadas em 20 casos (7%), sendo 9 casos de células tumorais isoladas, 8 casos de micrometástases e 3 casos de macrometástases. A taxa de detecção de metástases ocultas na literatura varia de 9 a 39%, dependendo do método de detecção empregado (MARINHO, 2004). Piatto *et al* encontraram uma taxa de 9,4% utilizando técnicas de IHQ semelhantes às empregadas em nosso estudo (PIATTO, 2008).

Em relação aos três casos (1,3%) de macrometástases de nossa série que foram detectados pela IHQ e não foram vistos nas lâminas coradas pela HE, é possível que os novos cortes histológicos aprofundados tenham permitido evidenciar ninhos de células neoplásicas que não estavam evidentes no plano de corte das secções coradas pela HE.

5.2- Número de linfonodos sentinela positivos e negativos

Considerando-se que em todos os casos estudados a BLS era sabidamente positiva, ou seja, havia pelo menos um LS acometido por metástase, o acometimento de mais de um LS aumentou a probabilidade de acometimento de linfonodos não-sentinela. A presença de um ou mais LS negativos diminuiu a probabilidade de acometimento metastático dos linfonodos não-sentinela. Nestes casos o LS foi o único linfonodo acometido. Dos 121 casos em que na BLS foram ressecados mais de um LS negativo, além de pelo menos um LS positivo, 27% apresentaram metástases em linfonodos não-sentinela. Já nos casos em que todos os LS ressecados foram positivos, 42,5% apresentaram metástases em linfonodos não-sentinela ($p = 0,016$). O escore de Tenon e os nomogramas do MSKCC, de Mayo e de Cambridge incluíram o número de LS negativos, LS positivos ou a relação entre eles em seus modelos de cálculo. (BARRANGER, 2005; VAN ZEE, 2003; DEGNIM, 2005; PAL, 2008). Todos estes estudos apresentaram resultados semelhantes ao nosso estudo em relação ao número de LS negativos e positivos e sua influência no risco de metástases nos linfonodos não-sentinela. Considerando-se que a disseminação metastática do câncer de mama ocorre quase exclusivamente por via linfática e que a drenagem linfática da mama segue um fluxo unidirecional predominantemente para os linfonodos axilares, pode-se compreender melhor os achados em relação ao número de LS positivos e negativos. Por exemplo, seria pouco provável que uma paciente com apenas um LS positivo, tendo sido ressecados mais dois LS negativos, apresentasse metástases em linfonodos não-sentinela no EA, que estariam a jusante do fluxo linfático dos LS ressecados.

Nossos achados reforçam a indicação de ressecar mais de um linfonodo na realização da BLS sempre que possível. Quando um LS é positivo, o acometimento ou não dos demais LS ressecados torna-se informação importante na quantificação do risco de acometimento dos linfonodos não-sentinela no EA.

5.3- Invasão de vasos linfáticos

O acometimento metastático de linfonodos é um evento resultante da invasão de vasos linfáticos por células tumorais. Apesar de teoricamente imprescindível para a fisiopatologia das metástases linfonodais e à distância, a presença de invasão de vasos linfáticos nem sempre é identificada no estudo histopatológico dos carcinomas mamários invasores. Isto ocorre por dificuldades na identificação de células tumorais isoladas ou pequenos êmbolos neoplásicos no interior de vasos linfáticos e também por não se utilizarem de forma rotineira marcadores endoteliais linfáticos na maioria dos serviços. Estudos anteriores e estudos de nosso grupo mostraram que o uso de marcadores endoteliais facilita a detecção de invasão linfovascular no tumor primário e relaciona-se com a detecção de metástases em pacientes com câncer de mama (GONZALEZ, 2006; MARINHO, 2008; LESTER, 2009).

Considerando-se que neste estudo a presença de invasão de vasos linfáticos apresentou um valor de p menor que 0,25 na análise univariada ($p = 0,075$), esta variável foi incluída na análise multivariada. Mas também não houve significância estatística ($p = 0,085$) na comparação com o acometimento de linfonodos não-sentinela.

A invasão de vasos linfáticos apresentou significância estatística em relação ao acometimento de linfonodos não-sentinela em vários estudos (VAN ZEE, 2003; HWANG, 2003; SAIDI, 2004; KOHRT, 2008), além de associar-se com pior prognóstico, apresentando potencial para disseminação metastática linfática, aumento de recorrência local e redução da sobrevida em pacientes com câncer de mama (GONZALEZ, 2006; MARINHO, 2008; LESTER, 2009). Alguns estudos incluíram em seus modelos matemáticos variáveis com valores de p estatisticamente não significativos. O próprio nomograma do MSKCC incluiu tipo histológico e grau nuclear do tumor ($p = 0,4$) e *status* do receptor de estrogênio ($p = 0,16$) (VAN ZEE, 2003). Optamos então por construir um modelo alternativo de nosso nomograma com a inclusão da invasão de vasos linfáticos, resultando em um aumento da acurácia ($AUC = 0,70$) em relação ao modelo final ($AUC = 0,66$).

5.4- Tamanho do tumor

Em nossa série, o tamanho tumoral não apresentou significância estatística na análise univariada na comparação com a presença de metástases nos linfonodos não-sentinela, diferindo dos resultados de vários estudos da literatura. Como o valor de p para o tamanho tumoral foi bastante elevado ($p = 0,487$, $p = 0,379$), esta variável não foi incluída na análise multivariada e optou-se por não incluí-la no modelo alternativo do nomograma. Em nosso estudo, a coleta de dados foi realizada de forma categórica pelo estadiamento TNM, e não em valores absolutos. Os resultados dos estudos disponíveis literatura são controversos em relação a esta variável. Além de ser um critério para a indicação da realização da BLS, em geral indicada em tumores com até 3,0cm, o tamanho tumoral foi fator determinante de metástase nos linfonodos não sentinela em

vários estudos, tendo sido incluído nos principais modelos matemáticos propostos (WEISER, 2001; CHUA, 2001; HWANG, 2003; VAN ZEE, 2003; BARRANGER, 2005; KHORT, 2008). No entanto, outros autores não encontraram relação estatisticamente significativa do tamanho tumoral com a presença de metástases nos linfonodos não-sentinela e corroboram com nosso estudo (VIALE, 2005; FAN, 2005; FLEMING, 2003; KAMATH, 2001).

5.5- O Nomograma

Dados da literatura mostram que a probabilidade de uma paciente com BLS positiva apresentar metástases no linfonodos não-sentinela no EA é de 40 a 70%, com média de 55%. O uso de uma ferramenta como o nomograma permite fornecer previsões mais precisas e individualizadas, considerando os fatores de risco de cada paciente.

O nomograma proposto em nosso estudo (modelo alternativo) representa a expressão matemática dos nossos resultados da avaliação dos fatores de risco no grupo de pacientes estudado, convertida em uma ferramenta para aplicação clínica. Foram incluídos todos os fatores de risco considerados estatisticamente significativos (tamanho da maior metástase do LS; número de LS negativos e positivos), além da presença de invasão de vasos linfáticos em função da importância clínica comprovada por outros estudos e por ter apresentado um valor p de 0,075, próximo àquele considerado estatisticamente significativo.

A inclusão do tamanho da metástase do LS entre os fatores de risco para metástases em linfonodos não-sentinela determinou um ganho expressivo no poder preditivo de nosso nomograma quando comparado ao clássico nomograma do MSKCC. A não inclusão do tamanho

da metástase do LS no nomograma do MSKCC ocasionou uma baixa acurácia deste modelo quando aplicado em pacientes com micrometástases no LS em outros estudos de validação deste nomograma em amostras populacionais diferentes e tem sido uma das maiores críticas ao nomograma do MSKCC (ALRAN, 2007; KOHRT, 2008). No entanto, a inclusão do método de detecção da metástase no nomograma do MSKCC poderia refletir indiretamente o tamanho da metástase do LS, como já mencionado anteriormente.

Tomando como exemplo o caso de uma paciente com carcinoma ductal invasor de mama, um tumor de 1,8 cm, com apenas um LS ressecado, tendo sido a metástase do LS detectada pela IHQ, temos uma predição da ocorrência de metástases em linfonodos não-sentinela de 11% pelo nomograma do MSKCC. Quando aplicado o modelo alternativo do nomograma proposto pelo nosso estudo, neste mesmo caso, considerando-se a que a metástase do LS fosse menor ou igual a 2 mm (micrometástase ou células tumorais isoladas), a predição seria de 12%, ou seja, uma predição muito próxima à do modelo do MSKCC. Entretanto, neste mesmo caso, se medida da metástase do LS fosse maior que 2 mm (macrometástase), a predição pelo nosso nomograma seria de 40%, expressivamente maior comparada à predição do nomograma do MSKCC e provavelmente interferiria na decisão terapêutica caso o nomograma fosse utilizado para este fim.

As faixas de predição de nosso modelo final do nomograma proposto (10 a 65%) e do nosso modelo alternativo (6 a 68%) diferem dos modelos propostos na literatura e podem falhar em não identificar aquelas pacientes com alta probabilidade de apresentar metástases em linfonodos não-sentinela. Evidentemente, em função de uma faixa de predição mais ampla e principalmente pela maior acurácia medida pela curva ROC (AUC = 0,689; IC 95% 0,633 a

0,763), nosso modelo alternativo foi superior ao modelo final ($AUC = 0,664$; IC 95% 0,599 a 0,729). O nomograma do MSKCC apresenta a maior faixa de predição (1 a 99%).

A opção por incluir apenas pacientes com carcinoma invasor da mama e excluir as pacientes com diagnóstico de CDIS puro em nosso estudo limita a utilização dos nomogramas propostos apenas para casos de carcinoma invasor, como nos principais modelos disponíveis na literatura.

O modelo alternativo do nomograma proposto pelo nosso estudo apresentou acurácia de 70% medida pela área sob a curva ROC ($AUC = 0,70$; IC95% de 0,633 a 0,763), o que seria considerado um teste razoável. O valor de 0,70 da AUC significa que, se considerarmos aleatoriamente duas pacientes com BLS positiva, uma com pelo menos um linfonodo não-sentinela positivo e outra com nenhum linfonodo não-sentinela positivo, a chance de obtermos uma probabilidade maior calculada pelo nomograma de metástases no EA na primeira paciente é de 70%. A curva ROC mostra a relação entre a sensibilidade e a taxa de falso-positivo de um teste, que define a presença ou não de uma doença ou condição. A área sob a curva ROC é uma medida sumária que reflete a capacidade inerente de um teste para discriminar um indivíduo doente de um não-doente dentre todos os níveis de positividade, ou seja, a área sob a curva ROC determina a acurácia do teste.

Nenhum dos modelos matemáticos disponíveis na literatura obteve acurácia superior a 90%, medida pela área sob a curva ROC ($AUC > 0,90$), o que seria considerado um teste excelente. Entre os modelos avaliados, o nomograma de Stanford obteve acurácia máxima de 86% ($AUC = 0,86$) em seu estudo original, sendo considerado um bom teste. Mas deve-se considerar que este estudo visou validar seu próprio modelo e foi realizado pelo próprio grupo que o desenvolveu. O escore de Tenon obteve acurácia de 82% ($AUC = 0,86$; IC95% de 0,77 a

0,88) quando aplicado em população independente em um estudo multicêntrico (COUTANT, 2009). Mas sua acurácia foi expressivamente menor ($AUC = 0,68$) em outro estudo que também utilizou um grupo populacional diferente daquele utilizado para sua construção (DAUPHINE, 2007).

O clássico estudo do MSKCC realizou uma validação interna de seu nomograma em seu artigo original ($AUC = 0,77$) e apresentou o maior número de estudos de validação entre os modelos disponíveis na literatura. Nestes estudos, o nomograma do MSKCC apresentou medidas de acurácia muito variáveis, avaliadas pela AUC que variou de 0,538 a 0,86 (DEGNIM, 2005; SPECHT, 2005; ALRAN, 2007; BEVILACQUA, 2007; DAUPHINE, 2007; PONZONE, 2007; ZGAJNAR, 2007; COUTANT, 2008; KLAR, 2008; KOHRT, 2008; PAL, 2008; et al.).

A maioria dos demais modelos de cálculo disponíveis na literatura foi submetida a estudos de validação interna, sendo aplicados nos mesmos grupos populacionais utilizados para sua construção. O comportamento dos nomogramas e de outros modelos de cálculo de probabilidade de risco em outros grupos populacionais é variável. A validação destes modelos passa pela aplicação dos modelos em populações distintas daquelas que foram utilizadas para a construção.

5.6- Considerações finais e perspectivas futuras

Construímos o primeiro nomograma brasileiro para predição do risco de metástases em linfonodos não-sentinela em pacientes com câncer de mama e BLS positiva. Nosso nomograma incluiu os principais fatores de risco incluídos nos modelos matemáticos disponíveis na literatura, com exceção do tamanho tumoral.

No entanto, os nomogramas propostos neste estudo, bem como os modelos disponíveis a literatura ainda não devem ser utilizados na rotina para contraindicar o EA e necessitam de mais estudos de validação.

São necessários estudos que estabeleçam pontos de corte na predição de risco dos nomogramas para a não indicação de EA, ou seja, uma faixa de predição a partir da qual a probabilidade de uma paciente com BLS positiva apresentar metástases em linfonodos não-sentinela seria tão baixa que os riscos do EA superariam os benefícios terapêuticos.

Estudos que avaliem a sobrevida, a taxa de recorrência de metástases axilares e à distância em pacientes com BLS positiva não submetidas a EA poderiam ajudar a validar os modelos matemáticos e estabelecer um ponto de corte para a predição de risco. E devem avaliar também a influência dos tratamentos adjuvantes (quimioterapia, radioterapia e hormonioterapia) propostos neste grupo de pacientes.

Pretendemos aperfeiçoar nosso nomograma e melhorar sua acurácia, incluindo a avaliação de outros marcadores moleculares para metástases do câncer de mama.

Nosso nomograma, similar aos outros modelos disponíveis, pode representar uma ferramenta adicional para ajudar mastologistas e pacientes com câncer de mama na decisão de realizar ou não o EA quando o LS é positivo.

4.6- Curva ROC

A Tabela 15 apresenta o nome do modelo (coluna 1), a área sob a curva ROC (coluna 2) e seu intervalo de confiança (coluna 3), os valores das probabilidades ajustadas pelos modelos de regressão definidos como ponto de corte e correspondente a sensibilidade e especificidade igual a 100% (colunas 4 e 6) e 90% (colunas 5 e 7).

Observa-se para o modelo final valor da área sob a curva ROC de 0,664 variando entre 0,599 e 0,729, valores das probabilidades ajustadas para sensibilidade de 100% e 90% iguais a 0,14 e 0,25, respectivamente, e valores das probabilidades ajustadas para especificidade de 100% e 90% iguais a 0,00 e 0,46, respectivamente.

Observa-se para o modelo alternativo do nomograma valor da área sob a curva ROC de 0,698 (0,633-0,763), valores das probabilidades ajustadas para sensibilidade de 100% e 90% iguais a 0,07 e 0,22, respectivamente, e valores das probabilidades ajustadas para especificidade de 100% e 90% iguais a 0,00 e 0,54, respectivamente.

Tabela 15: Área sob curva ROC para os valores de probabilidades ajustadas.

Modelo	Área	IC 95% da área	Valores de probabilidades ajustadas			
			Sensibilidade		Especificidade	
			100 %	90 %	100 %	90 %
Modelo final	0,664	0,599 a 0,729	0,14	0,25	0,00	0,46
Modelo alternativo	0,698	0,633 a 0,763	0,07	0,22	0,00	0,54

Nas Figuras 9 e 10 são apresentados, respectivamente, os gráficos para a curva ROC para os valores de probabilidade do modelos final e alternativo do nomograma em relação à presença de metástases no EA. Para que um teste seja considerado perfeito espera-se que o valor da área sob a curva ROC seja igual a 1 (acurácia de 100%). A linha diagonal do gráfico é uma linha de referência que divide a área do gráfico em duas partes iguais, ou seja, 0,5 abaixo da diagonal. Através da análise do gráfico e com o apoio do teste estatístico tem-se que a área sob a curva é superior a 0,50 ($p < 0,001$).

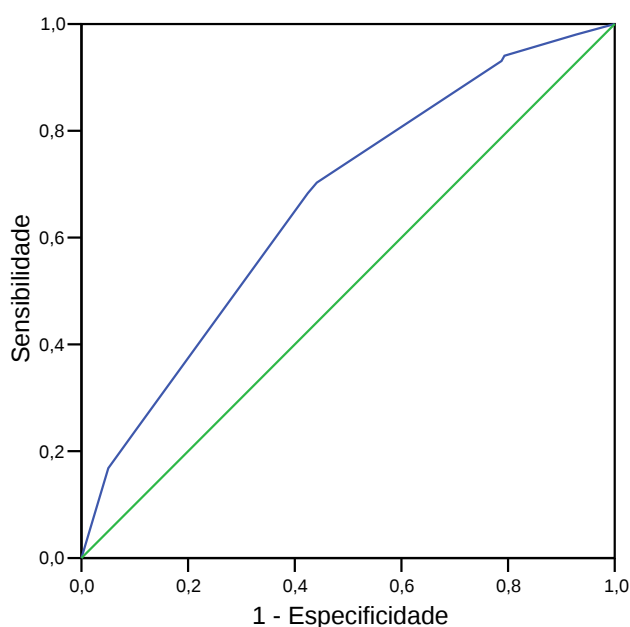


Figura 9: Curva ROC para probabilidades ajustadas pelo modelo final em relação ao grupo populacional estudado (AUC = 0,664).

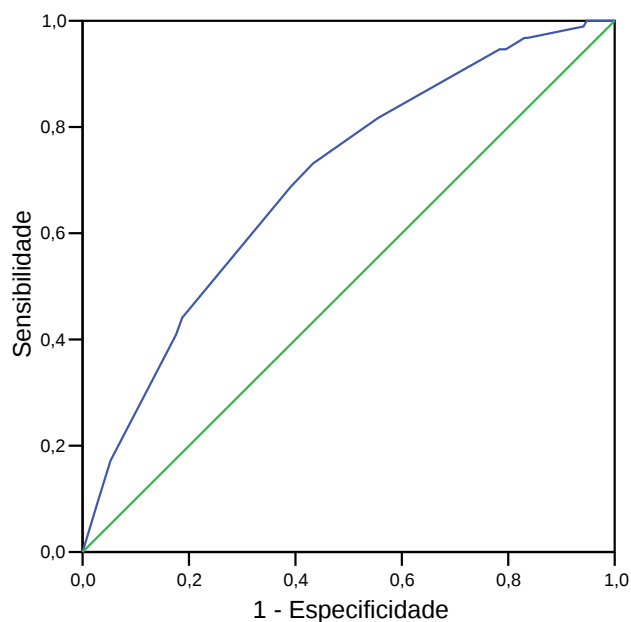


Figura 10: Curva ROC para probabilidades ajustadas pelo modelo alternativo em relação ao grupo populacional estudado (AUC = 0,698).

6- CONCLUSÕES

6- CONCLUSÕES

1. O tamanho da maior metástase do LS, o número de LS positivos e negativos foram fatores preditivos do acometimento de linfonodos não-sentinela em pacientes com BLS positiva. O tamanho da maior metástase do LS foi o fator preditivo mais significativo ($p = 0,002$).
2. A presença de invasão de vasos linfáticos e o tamanho tumoral não apresentaram significância estatística no presente estudo, mas são considerados fatores preditivos de metástases em linfonodos não-sentinela em outros estudos. A presença de invasão de vasos linfáticos apresentou níveis de significância próximos ($p = 0,075$ e $p = 0,085$) àquele considerado estatisticamente significativo.
3. A percentagem de pacientes estudadas que apresentaram BLS positiva e ausência de metástases nos linfonodos não-sentinela no EA foi de 65% e corresponde ao encontrado na literatura (40-70%).
4. O nomograma alternativo proposto pelo nosso estudo (modelo alternativo) apresentou acurácia de 70% ($AUC = 0,70$) no grupo populacional estudado, próxima à acurácia dos principais modelos matemáticos disponíveis na literatura em estudos de validação.

ANEXO 1



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

Parecer nº. ETIC 592/07

Interessado(a): Profa. Helenice Gobbi
Depto. de Anatomia Patológica e Medicina Legal
Faculdade de Medicina-UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 04 de janeiro de 2008, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado **"Estudo dos fatores de risco para acometimento de linfonodos não-sentinela em 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.

Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO 2

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário(a), em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir e no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento. Você deverá assinar duas vias, uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável.

Projeto: “Estudo dos Fatores de Risco para Acometimento de Linfonodos Não-Sentinela em Pacientes com Câncer de Mama”

Objetivo

Nosso projeto consiste em estudar os aspectos clínicos (como a idade das pacientes) e os achados no exame anatomo-patológico (tamanho, tipo e características do tumor e dos linfonodos) das pacientes tratadas no Hospital das Clínicas da UFMG com diagnóstico de câncer de mama, submetidas às cirurgias de biópsia de linfonodo sentinela e esvaziamento axilar.

Procedimentos

Não será necessária a realização de nenhum outro procedimento cirúrgico. Você como paciente **não** será submetido(a) à nova coleta de material, pois serão utilizadas apenas amostras de tecido obtidas de blocos de parafina que já se encontram armazenados no Laboratório de Patologia do Hospital das Clínicas da UFMG. O uso de material de arquivo **não** causará prejuízos a você, deixando ainda material suficiente nos blocos para outros testes clínicos que, eventualmente, possam ser necessários.

Acompanhamento

Não será necessário acompanhamento para o estudo. Você **não** será abordado(a) no que se refere à coleta de material, pois o material já está armazenado no Laboratório de Patologia. Você poderá ser solicitado(a) durante a pesquisa dos prontuários se os dados não forem suficientes para o preenchimento dos critérios analisados.

Riscos

Não haverá qualquer risco para o(a)s pacientes envolvidos no estudo, pois **não** haverá qualquer modificação no seu tratamento.

Indenização

Você **não** terá o direito de pleitear indenização, pois este trabalho **não** lhe causará nenhum dano ou prejuízo em relação ao material coletado.

Pagamento pela participação

Não haverá nenhum tipo de pagamento ou gratificação financeira pela sua participação no projeto se houver necessidade da sua abordagem durante o levantamento dos dados.

Confidencialidade

A sua identidade será mantida em sigilo e todos os dados nesta pesquisa serão absolutamente confidenciais. O(A)s pacientes envolvidos(as) serão identificadas por números e seus nomes **não** serão citados no estudo.

Uso e destinação dos dados coletados

Os dados coletados serão utilizados unicamente com a finalidade científica prevista nesta pesquisa.

Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis, **Dr Henrique Silva Bartels** nos telefones **(31) 9959-6002** ou **(31) 3409-9118**. Em caso de dúvidas sobre os seus direitos como participante nesta pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa pelo endereço: Avenida Antônio Carlos Nº 6627-Unidade Administrativa II 2º andar sala 2005 – BH – MG. CEP: 31270-901. Telefone: (31) 3499-4592.

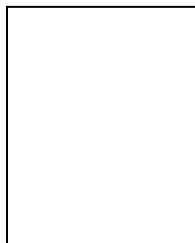
CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO DA PESQUISA

Eu, _____, RG _____, N. de prontuário _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo "**Estudo dos Fatores de Risco para Acometimento de Linfonodos Não-Sentinela em Pacientes com Câncer de Mama**", sob a responsabilidade do **Dr. Henrique Silva Bartels**, como sujeito voluntário. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi garantido à minha pessoa que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento, assistência ou tratamento.

Local e data _____

Nome e assinatura do sujeito ou responsável:

Assinatura Dactiloscópica:



Nome e assinatura do pesquisador responsável _____
Dr. Henrique Silva Bartels

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimento sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

Testemunhas

Nome: _____ Assinatura: _____

Nome: _____ Assinatura: _____

ANEXO 3



English | Português
 Usuário Logado: **bartelshs**
[Sair do sistema](#)

[Página inicial](#) > [Usuário](#) > [Autor](#) > **Submissões Ativas**

Submissões Ativas

ATIVO

ARQUIVO

ID	MM-DD ENVIAR SEC	AUTORES	TÍTULO	STATUS
RBGO-01-06 216	ART	Bartels, Marinho, Porto, Carvalho,...	FATORES DE RISCO PARA METÁSTASES EM LINFONODOS...	EM AVALIAÇÃO

1 a 1 de 1 Itens

Iniciar Nova Submissão

CLIQUE AQUI para iniciar os cinco passos do processo de Submissão.

Av. Bandeirantes, 3900 Departamento de Ginecologia e Obstetrícia 14049-900 - Ribeirão Preto-SP

ANEXO 4

Gobbi H, Bartels HS, Marinho VFZ, Porto ACS, Carvalho SMT, Osorio CABT, Ribeiro-Silva A, Silva GE, Soares FA.

Risk factors for non-sentinel lymph node metastasis in breast cancer patients with positive sentinel lymph node.

Modern Pathology, 23 (supplem 1): 47A, 2010.

Presented as a poster during the 99th Annual Meeting of the United States and Canadian Academy of Pathology

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLRED DC, HARVEY JM, BERARDO M, CLARK GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol.* 1998; 11(2):155-68.
2. ALRAN S, DERYCKE Y, FOURCHOTTE V, et al. Validation and limitations of use of a breast cancer nomogram predicting the likelihood of non-sentinel node involvement after positive sentinel node biopsy. *Ann Surg Oncol.* 2007; 14:2195-201.
3. BARRANGER E, COUTANT C, FLAHAULT A, DELPECH Y, DARAI E, UZAN S. An axilla scoring system to predict non-sentinel lymph node status in breast cancer patients with sentinel lymph node involvement. *Breast Cancer Res Treat.* 2005; 91(2):113-9.
4. BAUERFEIND I, HIMSL I, KÜHN T, UNTCH M, HEPP H. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: state of the art. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch.* 2004; 44(2):84-91.
5. BEVILACQUA JL, KATTANMW, FEY JV, CODY 3rd HS, BORGES PI, VAN ZEE KJ. Doctor, what are my chances of having a positive sentinel node? A validated nomogram for risk estimation. *J Clin Oncol.* 2007; 25:3670–9.
6. BLANCHARD DK, DONOHUE JH, REYNOLDS C, GRANT CS. Relapse and morbidity in patients undergoing sentinel lymph node biopsy alone or with axillary dissection for breast cancer. *Arch Surg.* 2003; 138:482–7.

7. BLOOM, H. & RICHARDSON, W. Histopathological grading and prognosis in breast cancer. A study of 1,409 cases of which 359 have been followed for 15 years. Br. J. Cancer. 1957; 11:359-77.
8. BOLSTER MJ, PEER PGM, BULT P, THUNNISSEN FBJM, SCHAPERS RFM, MEIJER JWR, et al. Risk factors for non-sentinel lymph node metastases in patients with breast cancer. The outcome of a multi-institutional study. Ann Surg Oncol. 2007; 14(1):181-9.
9. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro: INCA, 2009; 98 p. Disponível em www.inca.gov.br/estimativa/2010
10. CALHOUN KE, HANSEN NM, TURNER RR, GIULIANO AE. Nonsentinel node metastases in breast cancer patients with isolated tumor cells in the sentinel node: implications for completion axillary node dissection. Am J Surg. 2005; 190(4):588-91.
11. CARLO JT, GRANT MD, KNOX SM, JONES RC, HAMILTON CS, LIVINGSTON SA, KUHN JA. Survival analysis following sentinel lymph node biopsy: a validation trial demonstrating its accuracy in staging early breast cancer. Proc (Bayl Univ Med Cent). 2005; 18(2):103-7.
12. CHAMBERS, JM. Software for Data Analysis: Programming with R (Statistics and Computing). Springer, 2008, XIV. 498 p.
13. CHUA B, UNG O, TAYLOR R, BILOUS M, SALISBURY E, BOYAGES J. Treatment implications of a positive sentinel lymph node biopsy for patients with early-stage breast carcinoma. Cancer. 2001; 92(7):1769-74.

14. COUFAL O, PAVLÍK T, FABIAN P, BORI R, BOROSS G, SEJBEN I, et al.
Predicting non-sentinel lymph node status after positive sentinel biopsy in breast cancer: what model performs the best in a czech population? *Pathol Oncol Res.* 2009; 15(4):733-40.

15. COUTANT C, ROUZIER R, FONDRINIER E, MARCHAL F, GUILLEMIN F, BARRANGER E, et al. Validation of the Tenon breast cancer score for predicting non-sentinel lymph node status in breast cancer patients with sentinel lymph node metastasis: a prospective multicenter study. *Breast Cancer Res Treat.* 2009; 113(3):537-43. Epub 2008 Mar 14.

16. COUTANT C, ROUZIER R, OLIVIER C, BEZU C, MARPEAU O, DELPECH Y, et al. Models to predict non sentinel lymph node status in breast cancer patients with metastatic sentinel lymph node. *Gynecologie Obstetrique & Fertilité.* 2009; 37:160-6.

17. CSERNI G, GREGORI D, MERLETTI F, SAPINO A, MANO MP, PONTI A, et al. Meta-analysis of non-sentinel node metastases associated with micrometastatic sentinel nodes in breast cancer. *Br J Surg.* 2004; 91(10):1245-52.

18. DAUPHINE CE, HAUKOOS JS, VARGAS MP, ISAAC NM, KHALKHALI I, VARGAS HI. Evaluation of three scoring systems predicting non sentinel node metastasis in breast cancer patients with a positive sentinel node biopsy. *Ann Surg Oncol.* 2007;14:1014-9.

19. DEES EC, SHULMAN LN, SOUBA WW, et al. Does information from axillary dissection change treatment in clinically node-negative patients with breast cancer? *Ann Surg.* 1997; 226:279–87.
20. DEGNIM AC, REYNOLDS C, PANTVAIDYA G et al. Nonsentinel node metastasis in breast cancer patients: assessment of an existing and a new predictive nomogram. *Am J Surg.* 2005; 190: 543-50.
21. DE MASCAREL I, MACGROGAN G, DEBLED M, BROUSTE V, MAURIAC L. Distinction between isolated tumor cells and micrometastases in breast cancer: is it reliable and useful? *Cancer.* 2008; 112:1672–8.
22. DE MASCAREL I, MACGROGAN G, PICOT V, MATHOULIN-PELISSIER S. Prognostic significance of immunohistochemically detected breast cancer node metastases in 218 patients. *British Journal of Cancer.* 2002; 87:70-4.
23. DISAIA PJ, CREASMAN WT, RICH WM. An alternate approach to early cancer of the vulva. *Am J Obstet Gynecol.* 1979; 133(7):825-32.
24. ELSTON CW, ELLIS IO. *The Breast.* 3rd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1998. Cap. 15-17, 283-384.
25. ELSTON CW, ELLIS IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology.* 1991;19:403-10.
26. FAN YG, TAN YY, WU CT, TRESELER P, LU Y, CHAN CW, HWANG S, EWING C, ESSERMAN L, MORITA E, LEONG SP. The effect of sentinel node tumor burden on non-sentinel node status and recurrence rates in breast cancer. *Ann*

- Surg Oncol. 2005 Sep;12(9):705-11. Epub 2005 Aug 4. Erratum in: Ann Surg Oncol. 2005 Nov;12(11):952.
27. FERREIRA BP, PIMENTEL MD, SANTOS LC, DI FLORA W, GOBBI H. Morbidity after sentinel node biopsy and axillary dissection in breast cancer. Rev Assoc Med Bras. 2008;54(6):517-21.
 28. FISHER B, ANDERSON S, BRYANT J, MARGOLESE RG, DEUTSCH M, FISHER ER, et al. Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. N Engl J Med. 2002; 347(16):1233-41.
 29. FLEMING FJ, KAVANAGH D, CROTTY TB, QUINN CM, MCDERMOTT EW, O'HIGGINS N, HILL AD. Factors affecting metastases to non-sentinel lymph nodes in breast cancer. J Clin Pathol. 2004 Jan;57(1):73-6.
 30. FLETCHER GH, MONTAGUE E, NELSON AJ 3rd. Combination of conservative surgery and irradiation for cancer of the breast. AJR Am J Roentgenol. 1976 Feb;126(2):216-22.
 31. FOWLER JE Jr. Sentinel lymph node biopsy for staging penile cancer. Urology. 1984; 23(4):352-3.
 32. GERBER L, LAMPERT M, WOOD C, DUNCAN M, D'ANGELO T, SCHAIN W, et al. Comparison of pain, motion, and edema after modified radical mastectomy vs local excision with axillary dissection and radiation. Breast Cancer Res Treat 1992; 21:139–45.

33. GIULIANO AE, KIRGAN DM, GUENTHER JM, MORTON DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 1994; 220: 391–8; discussion 398–401.
34. GIULIANO AE. Sentinel lymphadenectomy in primary breast carcinoma: an alternative to routine axillary dissection. *J Surg Oncol*. 1996;62: 75–77.
35. GIULIANO AE, HAIGH PI, BRENNAN MB et al. Prospective observational study of sentinel lymphadenectomy without further axillarydissection in patients with sentinel node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2000;18:2553–9.
36. GOBBI H, ROCHA RM, NUNES CB. Predictive factors of breast cancer evaluated by immunohistochemistry. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2008; (44):131-40.
37. GONZALEZ MA, PINDER SE. Invasive carcinoma: other histologic prognostic factors - size, vascular invasion and prognostic index. In: O'Malley FP, Pinder SE, eds. *Breast Pathology*. Philadelphia, PA: Elsevier; 2006: 235–40.
38. GUILLO E, COUTANT C, BÉZU C, DELPECH Y, MARPEAU O, DARAÏ E, et al. Sentinel lymph node biopsy in invasive breast cancer in 2009. *J Med Liban*. 2009; 57(2):93-104.
39. HACK TF, COHEN L, KATZ J, ROBSON LS, GOSS P. Physical and psychological morbidity after axillary lymph node dissection for breast cancer. *J Clin Oncol* 1999;17:143–149.
40. HALSTED WS. The Results of Operations for the Cure of Cancer of the Breast Performed at the Johns Hopkins Hospital from June, 1889, to January, 1894. *Ann Surg*. 1894; 20(5):497-555.

41. HANDLEY RS, THACKRAY AC. Conservative radical mastectomy (Patey's operation). *Ann Surg.* 1963; 157:162-4.
42. HWANG RF, KRISHNAMURTHY S, HUNT KK, et al. Clinicopathologic factors predicting involvement of nonsentinel axillary nodes in women with breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2003; 10:248 –54.
43. JEMAL A, CLEGG LX, WARD E, RIES LA, WU X, JAMISON PM, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975–2001, with a special feature regarding survival. *Cancer* 2004; 101:3–27.
44. KAMATH VJ, GIULIANO R, DAUWAY EL, CANTOR A, BERMAN C, KU NN, et al. Characteristics of the sentinel lymph node in breast cancer predict further involvement of higher-echelon nodes in the axilla: a study to evaluate the need for complete axillary lymph node dissection. *Arch Surg.* 2001; 136(6):688-92.
45. KARAKIEWICZ P et al. The Cancer Prognostics and Health Outcomes Unit of The University of Montreal. Take The Nomogram Challenge. 2008. Disponível em: <http://www.nomogram.org>. Acesso em: 01 de agosto de 2009.
46. KLAR M, JOCHMANN A, FOELDI M, STUMPF M, GITSCH G, STICKELER E, et al. The MSKCC nomogram for prediction the likelihood of non-sentinel node involvement in a German breast cancer population. *Breast Cancer Res Treat.* 2008; 112:523–31.
47. KOHRT HE, OLSHEN RA, BERMAS HR, GOODSON WH, WOOD DJ, HENRY S, et al.; Bay Area SLN Study. New models and online calculator for predicting non-sentinel lymph node status in sentinel lymph node positive breast cancer patients. *BMC Cancer.* 2008; 4:8:66.

48. KOHRT HE, OLSHEN RA, JEFFREY SS. Non-sentinel lymph node metastasis calculator. Available: <https://www3-hrpdcc.stanford.edu/nsln-calculator/>. Acessado em janeiro de 2010.
49. KRAG DN, WEAVER DL, ALEX JC, FAIRBANK JT. Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol*. 1993; 2:335–9.
50. LEIDENIUS M, VAALAVIRTA L, HEIKKILÄ P, VON SMITTEN K, SALMENKIVI K. The prevalence of and risk factors for four or more metastatic axillary lymph nodes in breast cancer patients undergoing sentinel node biopsy. *J Surg Oncol*. 2008; 98(1):21-6.
51. LESTER SC, BOSE S, CHEN YY, CONNOLLY JL, DE BACA ME, FITZGIBBONS PL, et al. Members of the Cancer Committee, College of American Pathologists. Protocol for the examination of specimens from patients with invasive carcinoma of the breast. *Arch Pathol Lab Med*. 2009; 133(10):1515-38.
52. LYMAN GH, GIULIANO AE, SOMERFIELD MR et al. American society of clinical oncology guideline recommendations for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2005; 23:7703–20.
53. MADDEN JL. Modified radical mastectomy. *Surg Gynecol Obstet*. 1965; 121(6):1221-30.
54. MAGALDI CM, BARROS ACSD, MAGALDI FM, MANTESE JC, PINOTTI JA. Avaliação da morbidade e funcionalidade do membro superior em mulheres

- submetidas à linfadenectomia axilar total e biópsia de linfonodo sentinela por câncer de mama. *Rev. Bras. Mastologia*. 2005; 15(1):9-14.
55. MARINHO VF, METZE K, SANCHES FS, ROCHA GF, GOBBI H. Lymph vascular invasion in invasive mammary carcinomas identified by the endothelial lymphatic marker D2-40 is associated with other indicators of poor prognosis. *BMC Cancer*. 2008; 29(8):64.
 56. MARINHO VF, METZE K, SANCHES FS, ROCHA GF, GOBBI H. Marcadores moleculares em câncer de mama preditivos de metástases axilares. *Rev Assoc Med Bras*. 2008; 54(3):203-7.
 57. MARINHO VF, ZAGURY MS, CALDEIRA, LG, GOBBI H. Micrometástases de carcinoma da mama em linfonodos axilares: detecção por imunoistoquímica versus hematoxilina e eosina. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* [online]. 2004; 40(2):127-32.
 58. MARINHO VF, ZAGURY MS, CALDEIRA, LG, GOBBI H. Relationship between histologic features of primary breast carcinomas and axillary lymph node micrometastases: detection and prognostic significance. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2006; 14(4):426-31.
 59. MEMORIAL SLOAN-KETTERING CANCER CENTER. Breast cancer nomograms: additional nodal metastases. Acessado em fevereiro de 2010. http://www.mskcc.org/mskcc/applications/nomograms_v2/BreastNonSLN.aspx
 60. MORROW M. Sentinel lymph node biopsy: benefits and limitations. *Zentralbl Gynakol*. 2003; 125(9):335-7.
 61. MOTOMURA K, NAGUMO S, KOMOIKE Y, KOYAMA H, INAJI H. Accuracy of imprint cytology for intraoperative diagnosis of sentinel node metastases in breast cancer. *Ann Surg*. 2008; 247(5):839-42.

62. MOTOMURA K, NAGUMO S, KOMOIKE Y, KOYAMA H, INAJI H. Intraoperative imprint cytology for the diagnosis of sentinel node metastases in breast cancer. *Breast Cancer*. 2007; 14(4):350-3.
63. NAIK AM, FEY J, GEMIGNANI M, HEERDT A, MONTGOMERY L, PETREK J, PORT E, SACCHINI V, SCLAFANI L, VAN ZEE K, et al. The risk of axillary relapse after sentinel lymph node biopsy for breast cancer is comparable with that of axillary lymph node dissection: a follow-up study of 4008 procedures. *Ann Surg*. 2004; 240(3):462-8; discussion 468-71.
64. PAGE DL, JENSEN RO, SIMPSON JF. Routinely available indicators of prognosis in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1998; 51:195-208.
65. PAL A, PROVENZANO E, DUFFY SW, PINDER SE, PURUSHOTHAM AD. A model for predicting non-sentinel lymph node metastatic disease when the sentinel lymph node is positive. *Br J Surg*. 2008; 95:302-9.
66. PARK J, FEY JV, NAIK AM, BORGES PI, VAN ZEE KJ, CODY HS 3rd. A declining rate of completion axillary dissection in sentinel lymph node-positive breast cancer patients is associated with the use of a multivariate nomogram. *Ann Surg*. 2007; 245(3):462-8.
67. PIATO JR, PINCERATO KM, GOMES VC, CARVALHO FM, PINHEIRO WDA S, BARACAT EC. Metástase oculta em linfonodo sentinela no câncer de mama em estádios iniciais. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2008; 30(9):432-6.
68. PONZONE R, MAGGIOROTTO F, MARIANI L, JACOMUZZI ME, MAGISTRIS A, MININANNI P, et al. Comparison of two models for the prediction of nonsentinel node metastases in breast cancer. *Am J Surg*. 2007; 193(6):686-92.

69. POSTHER KE, MCCALL LM, BLUMENCRANZ PW, BURAK WE JR, BEITSCH PD, HANSEN NM, MORROW M, WILKE LG, HERNDON JE 2ND, HUNT KK, GIULIANO AE. Sentinel node skills verification and surgeon performance: data from a multicenter clinical trial for early-stage breast cancer. *Ann Surg.* 2005; 242(4):593-9; discussion 599-602.
70. RODIER JF, VELTEN M, WILT M, MARTEL P, FERRON G, VAINI-ELIES V, et al. Prospective multicentric randomized study comparing periareolar and peritumoral injection of radiotracer and blue dye for the detection of sentinel lymph node in breast sparing procedures: FRANSENODE trial. *J Clin Oncol.* 2007; 25(24):3664-9.
71. SACHDEV U, MURPHY K, DERZIE A, JAFFER S, BLEIWEISS IJ, BROWER S. Predictors of non-sentinel lymph node metastasis in breast cancer patients. *Am J Surg* 2002; 183:213–7.
72. SAIDI RF, DUDRICK PS, REMINE SG, MITTAL VK. Nonsentinel lymph node status after positive lymph node biopsy in early breast cancer. *Am Surg.* 2004; 70:101-5.
73. SALLES MA, CÚRCIO VS, PEREZ AA; GOMES DS; GOBBI H. Contribuição da imuno-histoquímica na avaliação de fatores prognósticos e preditivos do câncer de mama e no diagnóstico de lesões mamárias. *J Bras Patol Med Lab.* 2009; 45(3):213-22.
74. SATO K. Clinical trials for sentinel node biopsy in patients with breast cancer. *Breast Cancer.* 2007; 14(1):31-6.

75. SCARFF, R. & TORLONI, F. Histological typing of breast tumors. International histological classification of tumors. no 2. Geneva: World Health Organization, 1968.
76. SPECHT MC, KATTAN MW, GONEN M, FEY J, VAN ZEE KJ. Predicting nonsentinel node status after positive sentinel lymph biopsy for breast cancer: clinicians versus nomogram. *Ann Surg Oncol*. 2005; 12(8):654-9.
77. TAPE TG. University of Nebraska Medical Center. Interpreting Diagnostic Tests - The Area Under an ROC Curve. Disponível em: <http://gim.unmc.edu/dxtests/ROC3.htm>. Acesso em: 01 de agosto de 2009.
78. TRIOLA MF. Introdução à estatística. 7^a. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1999. 410 p.
79. TURNER RR, OLLILA DW, KRASNE DL, GIULIANO AE. Histopathologic validation of the sentinel lymph node hypothesis for breast carcinoma. *Ann Surg*. 1997; 226:271–8.
80. TURNER RR, WEAVER DL, CSERNI G et al. Nodal stage classification for breast carcinoma: improving interobserver reproducibility through standardized histologic criteria and image-based training. *J Clin Oncol*. 2008; 26:258–63.
81. UNAL B, GUR AS, KAYIRAN O, JOHNSON R, AHRENDT G, BONAVENTURA M, et al. Models for predicting non-sentinel lymph node positivity in sentinel node positive breast cancer: the importance of scoring system. *Int J Clin Pract*. 2008; 62(11):1785-91.
82. VAN ZEE KJ, MANASSEH DM, BEVILACQUA JL, et al. A nomogram for predicting the likelihood of additional nodal metastases in breast cancer patients with a positive sentinel node biopsy. *Ann Surg Oncol*. 2003; 10:1140 –51.

83. VAN ZEE KJ, MANASSEH DM, BEVILACQUA JL, et al. A nomogram for predicting the likelihood of additional nodal metastases in breast cancer patients with a positive sentinel node biopsy. *Ann Surg Oncol*. 2003; 10:1140-51.
84. VERONESI U, PAGANELLI G, GALIMBERTI V, VIALE G, ZURRIDA S, BEDONI M, COSTA A, DE CICCIO C, GERAGHTY JG, LUINI A, SACCHINI V, VERONESI P. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet*. 1997; 349:1864-7.
85. VERONESI U, PAGANELLI G, VIALE G, LUINI A, ZURRIDA S, GALIMBERTI V, et al. A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N Engl J Med* 2003; 349:546–53.
86. VIALE G, MAIORANO E, PRUNERI G, MASTROPASQUA MG, VALENTINI S, GALIMBERTI V, et al. Predicting the risk for additional axillary metastases in patients with breast carcinoma and positive sentinel lymph node biopsy. *Ann Surg*. 2005; 241(2):319-25.
87. VERONESI U, BOYLE P, GOLDBIRSCH A, ORECCHIA R, VIALE G. Breast cancer. *Lancet*. 2005; 14-20; 365(9472):1727-41.
88. WEISER MR, MONTGOMERY LL, TAN LK, SUSNIK B, LEUNG DY, BORGES PI, et al. Lymphovascular invasion enhances the prediction of non-sentinel node metastases in breast cancer patients with positive sentinel nodes. *Ann Surg Oncol*. 2001; 8(2):145-9.
89. WONG SL, EDWARDS MJ, CHAO C, TUTTLE TM, NOYES RD, WOO C, et al; University of Louisville Breast Cancer Sentinel Lymph Node Study Group.

Predicting the status of the nonsentinel axillary nodes: a multicenter study. Arch Surg. 2001; 136(5):563-8.

90. ZAVAGNO G, CARCOFORO P, MARCONATO R, FRANCHINI Z, SCALCO G, BURELLI P, et al. Role of axillary sentinel lymph node biopsy in patients with pure ductal carcinoma in situ of the breast. BMC Cancer. 2005; (11)5:28.

91. ZGAJNAR J, PERHAVEC A, HOCEVAR M, PODKRAJSEK M, HERTL K, FRKOVIC- GRAZIO S, et al. Low performance of the MSKCC nomogram in preoperatively ultrasonically negative axillary lymph node in breast cancer patients. J Surg Oncol. 2007; 96:547–53.