

ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DO PORTO

INSTITUTO POLITÉCNICO DO PORTO

**MARTA DANIELA TOMÉ SANTOS**

Unidade Local de Saúde de Matosinhos, EPE – Hospital Pedro Hispano

# **CANCRO DA MAMA: AVALIAÇÃO DO GÂNGLIO SENTINELA EM EXAME EXTEMPORÂNEO**

---

MESTRADO EM TECNOLOGIA BIOQUÍMICA EM SAÚDE

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DO PORTO PARA CUMPRIMENTO DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM TECNOLOGIA BIOQUÍMICA EM SAÚDE, REALIZADA SOB A ORIENTAÇÃO CIENTÍFICA DE:

**ORIENTADOR INSTITUCIONAL: PROF. DOUTORA CRISTINA PRUDÊNCIO**

Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto do Instituto Politécnico do Porto –  
Área Científica de Ciências Químicas e das Biomoléculas

**CO-ORIENTADOR: MESTRE AMARO FRUTUOSO**

Unidade Local de Saúde de Matosinhos, E.P.E. – Técnico Coordenador do Serviço de  
Anatomia Patológica do Hospital Pedro Hispano  
Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto do Instituto Politécnico do Porto –  
Área Científica de Anatomia Patológica, Citológica e Tanatológica

SETEMBRO, 2011

*“I shall try to correct errors when shown to  
be errors, and I shall adopt new views so  
fast as they shall appear to be true views”*

Abraham Lincoln

## **AGRADECIMENTOS**

---

Finalizada esta etapa da minha vida académica e pessoal, não posso deixar de expressar o agradecimento a todos aqueles que me apoiaram neste percurso e contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao Técnico Amaro Frutuoso, o meu maior agradecimento por toda a disponibilidade e orientação prestada e pelo apoio incondicional.

À Professora Cristina Prudêncio, agradeço pela orientação, apoio e disponibilidade e pelo conhecimento transmitido ao longo do curso de Mestrado.

Ao Professor Ruben Fernandes pela preocupação, interesse e disponibilidade sempre demonstrados ao longo do Mestrado.

À Professora Mónica Faria pelo apoio estatístico indispensável na concretização deste trabalho.

À Dr.<sup>a</sup> Mrinalini Honavar pelo interesse e apoio e pela disponibilidade que me proporcionou.

Agradeço a todos os profissionais do Serviço de Anatomia Patológica da ULSM, EPE – Hospital Pedro Hispano pelo apoio e compreensão ao longo do Mestrado, tornando possível a sua realização, incluindo este trabalho.

Aos meus familiares e amigos próximos, Pais, Irmã, Nuno e Joana agradeço pela compreensão e apoio incondicionais e pela coragem e perseverança que sempre me transmitiram.

A todos, o meu *Obrigada*.

## **RESUMO**

---

A maximização do potencial da abordagem cirúrgica conservadora da axila para o cancro da mama, como um método minimamente invasivo para a avaliação de metastização axilar, visando diminuir a morbilidade associada ao esvaziamento axilar completo, requer um método preciso para avaliação patológica intraoperatória. Esse método não foi ainda estabelecido. *Imprints* e corte de congelação do gânglio sentinela são os procedimentos comumente utilizados, apesar de uma sensibilidade e especificidade inferior à desejada. Actualmente, novas técnicas estão a ser desenvolvidas, que apesar da sua optimização, ainda não ultrapassam os resultados das utilizadas.

Um total de 138 mulheres com cancro da mama, submetidas a cirurgia mamária por abordagem conservadora da axila, cuja utilização de *imprints* e cortes de congelação foram os métodos de avaliação intraoperatória do gânglio sentinela. Os diagnósticos dados pela observação dos cortes dos fragmentos do exame extemporâneo foram comparados com os obtidos nos cortes histológicos definitivos dos fragmentos fixados em formol e incluídos em parafina. Os resultados obtidos da avaliação do exame extemporâneo demonstraram sensibilidade de 79,1%, especificidade de 96,9%, com uma precisão de 91,4%. Não se obteve correlação entre os resultados do extemporâneo e os parâmetros de caracterização do exame extemporâneo e tumores.

Os métodos, *imprints* e cortes de congelação, actualmente utilizados na nossa instituição apresentam bons resultados, mas a adopção de apenas um ou outro necessita de uma análise mais aprofundada dos dados relativos à metodologia utilizada nos extemporâneos, de forma a verificar a especificidade e sensibilidade individualizadas dos *imprints* e dos cortes de congelação. Se os *imprints* se revelarem semelhantes aos cortes de congelação, a sua utilização é preferencial uma vez que acarreta menores custos e são menos morosos. A implementação de novas técnicas será uma metodologia adoptar, pelos benefícios acrescidos, porém mais estudos e a optimização destas técnicas são necessários de forma a superar as limitações ainda existentes.

#### **PALAVRAS-CHAVE**

cancro da mama, gânglio sentinela, exame extemporâneo, cortes de congelação, *imprints*.

## **ABSTRACT**

---

Maximization of the potential of conservative axillary surgical approach to breast cancer, as a minimally invasive method for the evaluation of axillary metastasis and in order to reduce the morbidity associated with complete axillary dissection requires a method to evaluate intraoperative pathological need. This method has not been established yet. Imprints and frozen section of sentinel node are commonly used procedures, although sensitivity and specificity are less than desirable. Currently, new techniques are being developed, which despite its optimization, the results do not overcome those which are currently used.

An amount of 138 women with breast cancer undergone to conservative breast surgery in the armpit conservation approach, whose use of imprints and frozen sections were the methods of intraoperative assessment of sentinel node. The extemporaneous diagnoses were compared to those of permanent histological cuts. The results of sentinel lymph node evaluation shown an sensibility of 79,1%, specificity of 96,9% and an accuracy de 91,4%. It was not shown relation between sentinel lymph node results and the tumors characteristics.

The methods, imprints and frozen sections, currently used at our institution had good results, but the adoption of only one requires a deeper analysis of data concerning the methodology used in the extemporaneous, to verify the individual specificity and sensitivity of imprints and frozen sections. If imprints prove similar to frozen sections, its use is preferred since it entails lower costs and less time consuming. The implementation of new techniques is a methodology to be adopted by the added benefits, but further studies and optimization of these techniques are necessary in order to overcome the limitations that still exist.

#### **KEYWORDS**

breast cancer, sentinel node, intraoperative, frozen sections, imprints.

# ÍNDICE

---

<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
I. O CANCRO DA MAMA	2
1. Epidemiologia	2
2. Etiologia e Factores de Risco	4
3. Classificação	7
4. Estadiamento e indicadores Prognósticos	8
II. CIRURGIA MAMÁRIA	12
1. Abordagem Conservadora da Axila	12
2. Pesquisa intraoperatória do Gânglio Sentinela	13
3. Esvaziamento Ganglionar Axilar	14
III. EXAME EXTEMPORÂNEO DO GÂNGLIO SENTINELA	16
1. Esfregaços Citológicos	17
2. Cortes de Congelação	18
3. Outros Métodos	19
IV. OBJECTIVOS	21
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>22</b>
I. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	23
II. METODOLOGIA	23
III. ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
IV. ÉTICA	25
<b>RESULTADOS</b>	<b>26</b>
I. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	27
1. População	27
2. Tumores	28
3. Exame Extemporâneo	30
II. ANÁLISE DOS RESULTADOS	33
<b>DISCUSSÃO</b>	<b>36</b>
<b>CONCLUSÃO</b>	<b>41</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>43</b>

---

## FIGURAS

---

Figura 1. Taxa de Incidência de Cancro da Mama no Mundo, padronização etária (por 100.000) (Ferlay, 2010).....	2
Figura 2. Taxas Mundiais de Incidência e Mortalidade do Cancro da Mama (por 100.000) (Ferlay, 2010).....	3
Figura 3. Incidência e Mortalidade do Cancro da Mama no sexo feminino em Portugal (Ferlay, 2010). ....	4
Figura 4. Representação esquemática da glândula mamária, pormenor da unidade lobular ductal terminal (ULDT) (ACS, 2010).....	7
Figura 5. Classificação TMN: categorização das dimensões do tumor (T) (AJCC, 2009).....	8
Figura 6. Definição de micro e macrometastase (Kurosumi & Takei, 2007). ....	9
Figura 7. Representação esquemática dos três níveis ganglionares axilares (AJCC, 2009). ....	9
Figura 8. Gânglios sentinela identificados após injeção de Azul Patente V (Dixon, 2006).....	14
Figura 9. Aglomerado celular em <i>imprint</i> citológico de gânglio sentinela metastizado (Fotou <i>et al.</i> , 2007). ....	17
Figura 10. Corte de congelação de gânglio sentinela, não evidenciando a presença de metástases (Dixon, 2006). ....	18

---

## TABELAS

---

Tabela 1. Factores de risco e risco relativo no grupos mais propensos a desenvolver cancro da mama (Adaptado de Dixon, 2006).....	6
Tabela 2. Estadiamento dos tumores.....	10
Tabela 3. Relação do IPN e o prognóstico da doença.....	11
Tabela 4. Parâmetros da informação recolhida sobre os casos de estudo. ....	23
Tabela 5. Frequências absolutas e relativas dos parâmetros de caracterização da população.....	27
Tabela 6. Distribuição dos grupos etários nos anos estudados. ....	27
Tabela 7. Número de resultados e frequências absolutas e relativas dos parâmetros de caracterização dos tumores. ....	28
Tabela 8. Frequências absolutas e relativas dos parâmetros de caracterização do exame extemporâneo. ....	30
Tabela 9. Relação dos resultados do exame extemporâneo com os definitivos.....	33
Tabela 10. Avaliação Estatística do Exame Extemporâneo.....	33

---

Tabela 11. Frequências absolutas e relativas dos parâmetros de associação com os resultados dos exames extemporâneos.....	34
Tabela 12. Frequências absolutas e relativas dos parâmetros de associação com os exames extemporâneos (continuação).....	35
Tabela 13. Caracterização dos casos falsos-positivos e falsos-negativos. ....	35

---

## GRÁFICOS

---

Gráfico 1. Frequência e Tipo Histológico dos Tumores por Ano.....	29
Gráfico 2. Distribuição de resultados pelos diferentes parâmetros de classificação dos tumores. ....	30
Gráfico 3. Distribuição relativa do número de gânglios sentinela enviados para exame extemporâneo. ....	31
Gráfico 4. Frequência da metodologia adoptada na realização dos exames extemporâneos. (Imp - <i>imprints</i> ; CC - cortes de congelação).....	31
Gráfico 5. Média de <i>imprints</i> e cortes de congelação realizados por número de gânglios enviados para exame extemporâneo. (Imp - <i>imprints</i> ; CC - cortes de congelação).....	32
Gráfico 6. Tempo médio, em minutos, da realização dos exames extemporâneos, total e por metodologia adoptada. ....	32

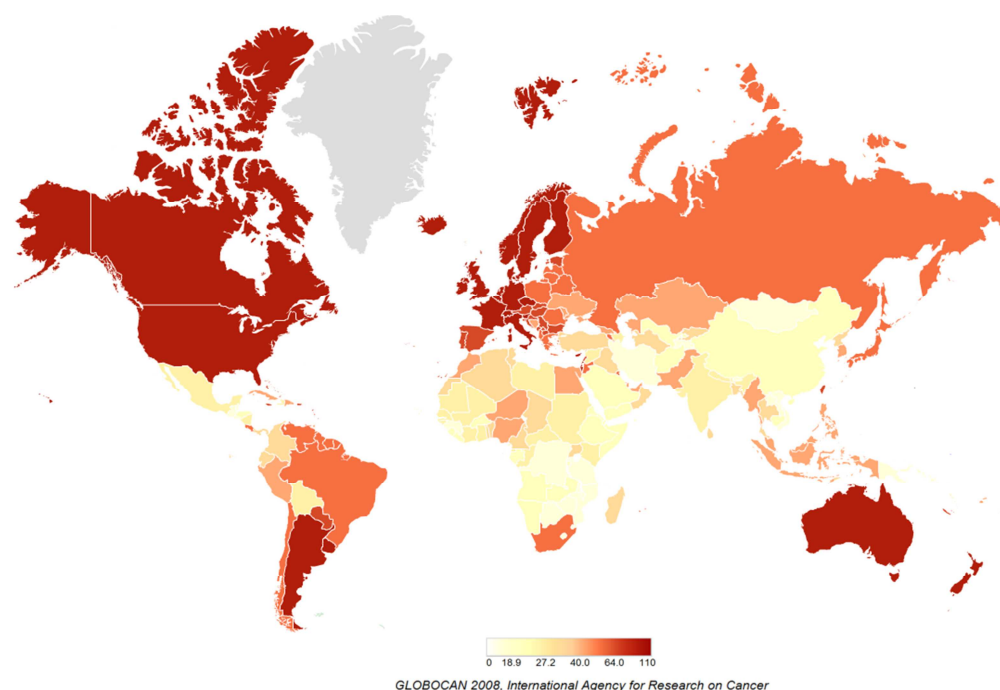
# **INTRODUÇÃO**

---

## I. O CANCRO DA MAMA

### 1. EPIDEMIOLOGIA

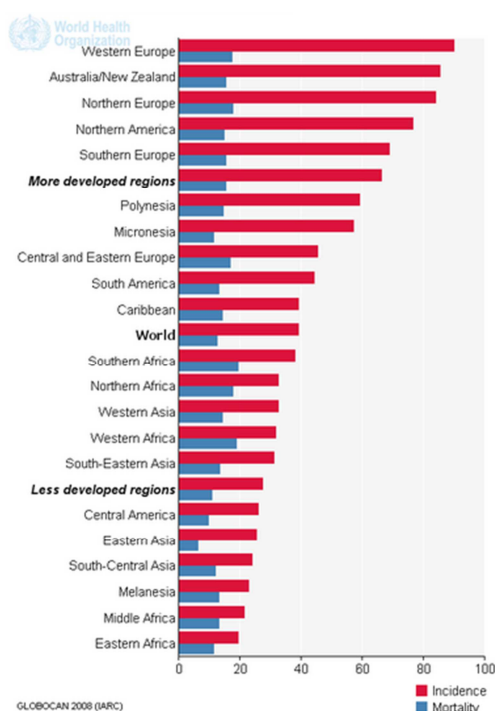
O cancro da mama é o tumor maligno com maior incidência mundial no sexo feminino, estimada em 23% de todos os novos casos de cancro diagnosticados em 2008 (1,38 milhões), sendo segundo entre todos os cancros em ambos os sexos com uma incidência de 10,9%. A taxa de incidência varia conforme o grau de desenvolvimento dos países, sendo maior nos países desenvolvidos do que nos em desenvolvimento (Figura 1). A elevada incidência nas áreas mais ricas do mundo é provavelmente devida à presença de programas de rastreio para detecção precoce da doença (Ferlay, 2010; WHO, 2008).



**Figura 1. Taxa de Incidência de Cancro da Mama no Mundo, padronização etária (por 100.000) (Ferlay, 2010).**

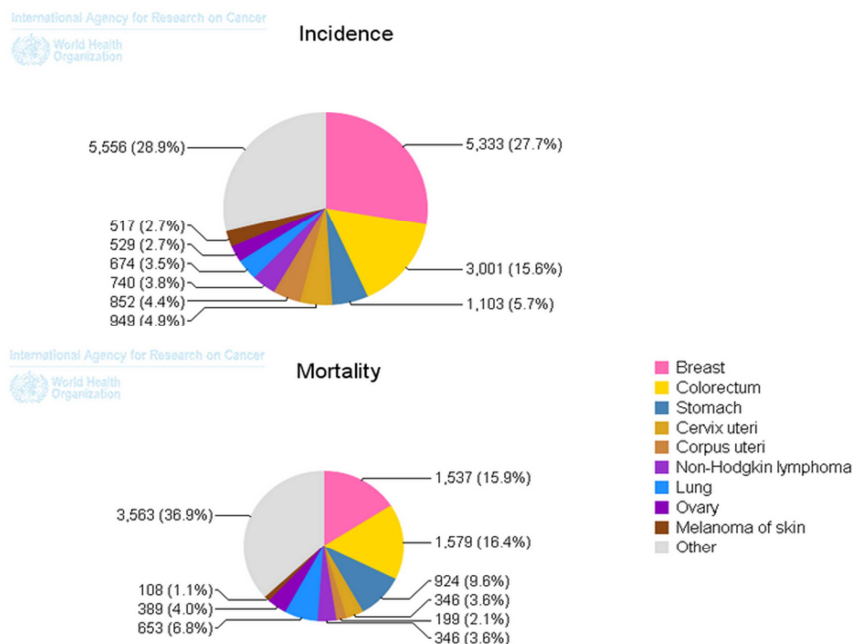
A taxa de mortalidade do cancro da mama não acompanha a sua taxa de incidência, evidenciando uma variação menor entre os países desenvolvidos e em desenvolvimento. Nos países desenvolvidos, apesar da elevada incidência, a taxa de mortalidade é menor

pela detecção precoce da doença, diagnósticos adequados e facilidades de tratamento disponíveis (Figura 2). O cancro da mama ocupa o quinto lugar das causas de morte relacionadas com cancro, sendo a principal no sexo feminino (269 mil mortes, que representam uma mortalidade de 12,7%). Porém, é também o cancro com maior prevalência em todo mundo, pela combinação de uma elevada incidência e de um prognóstico favorável, apresentando uma taxa de sobrevivência a 5 anos de 80% ou superior nos países mais desenvolvidos (Bastos, *et al.*, 2007; Coleman *et al.*, 2008; Ferlay, 2010; WHO, 2006b).



**Figura 2. Taxas Mundiais de Incidência e Mortalidade do Cancro da Mama (por 100.000) (Ferlay, 2010).**

Em Portugal, no ano de 2008, foram diagnosticados 5333 novos casos de cancro da mama. É o segundo cancro mais frequente em ambos os sexos. No sexo feminino é o de maior incidência, representando 27,7% de todos os cancros diagnosticados, o responsável por 1537 das mortes relacionadas com cancro, representando 15,9% de mortalidade (Figura 3) e cuja taxa de sobrevivência a 5 anos é 72,2% (Coleman, *et al.*, 2008; Ferlay, 2010).



**Figura 3. Incidência e Mortalidade do Cancro da Mama no sexo feminino em Portugal (Ferlay, 2010).**

## **2. ETIOLOGIA E FACTORES DE RISCO**

A etiologia exacta para o desenvolvimento de cancro da mama permanece ainda por esclarecer. Estão documentados diversos factores de risco para este cancro, não sendo no entanto possível, para 80% das mulheres que desenvolveram cancro da mama, identificar causas e factores de risco específicos (IARC, 2008; Pruthi *et al.*, 2007).

A idade e o sexo estão indicados como factores de risco associados ao desenvolvimento de cancro da mama, uma vez que, mundialmente, 75% dos novos casos e 84% das mortes por cancro da mama ocorrem em mulheres com idade igual ou superior a 50 anos e uma em cada 8 mulheres desenvolverão cancro da mama durante a expectativa de vida de 80 anos, podendo este aumento estar directamente relacionado com as alterações hormonais típicas deste grupo etário (Pruthi, *et al.*, 2007; WHO, 2006b).

A presença de história familiar com antecedentes de cancro da mama, principalmente de familiares em primeiro grau, traduz um aumento do risco de duas a três vezes mais provável de desenvolver cancro da mama. Nos casos de antecedentes familiares, 5% a 10% dos cancros estão associadas à herança de genes autossómicos com mutações, principalmente nos genes BRCA1, BRCA2 e TP53, mas correspondendo apenas a uma

pequena parcela do total de casos de cancro de mama. Existem ainda 15% a 20% de casos de cancro da mama com antecedentes familiares, mas cujos mecanismos de herança não são identificáveis (Dixon, 2006; IARC, 2008; Pruthi, *et al.*, 2007).

Antecedentes de história pessoal de doenças benignas da mama como cistos, fibroadenomas complexos, papilomas ductais, sugerem um risco aumentado, de 1,5 a 3 vezes, de desenvolvimento de cancro da mama, não sendo no entanto clinicamente relevante. Por sua vez, a hiperplasia epitelial atípica severa é a patologia benigna cujo aumento do risco é mais significativo: 4 a 5 vezes para um período de 15 anos, em relação a mulheres que desenvolvam qualquer tipo de alterações proliferativas na mama (Dixon, 2006; Pruthi, *et al.*, 2007).

A exposição a estrogénios endógenos e exógenos, pela indução e promoção da carcinogénese do cancro da mama, é o factor de risco com maior destaque. É admitido que o mecanismo da carcinogénese resulte da estimulação hormonal do crescimento tecidual e dos potenciais metabolitos genotóxicos resultantes do metabolismo do estrogénio sérico. O efeito cumulativo de hormonas endógenas pode ser associado a factores reprodutivos como menarca precoce, menopausa tardia e idade tardia do primeiro parto. Por sua vez, o risco de desenvolvimento de cancro da mama, por cada ano de aleitamento, é reduzido em 4%. Como exposição exógena são considerados os contraceptivos orais e terapias de reposição hormonal, porém estudos recentes apontam para a associação do aumento de risco e este tipo de exposição hormonal, advenha da exposição a níveis mais elevados de progesterona, pelo que a toma dos contraceptivos orais actuais, pelas dosagens hormonais reduzidas, não aduzem por si só ao risco aumentado de desenvolvimento de cancro (IARC, 2008; Pruthi, *et al.*, 2007).

O principal factor ambiental demonstrado em ter uma ligação directa com o cancro da mama é a radiação ionizante. Estudos epidemiológicos mostram que mulheres expostas a radiação ionizante, devido à guerra nuclear e procedimentos médicos de diagnóstico ou terapêutica, têm um risco aumentado de desenvolver cancro da mama. Exposição à radiação após os 40 anos resulta num aumento mínimo do risco, enquanto a radiação na adolescência se apresenta associada a um maior risco. Um grupo de risco, em particular e contemporâneo, no desenvolvimento de cancro do mama que está significativamente aumentado e necessita de um controlo mais precoce para a sua possível detecção, é o de

mulheres tratadas com radioterapia por linfoma durante a adolescência (Dixon, 2006; WHO, 2006b).

Vários outros factores de risco modificáveis contribuem, em conjunto, em 21% das mortes relacionadas com cancro da mama em todo o mundo: excesso de peso, consumo excessivo de bebidas alcoólicas e sedentarismo. A obesidade está associada a um aumento de 2 vezes no risco de desenvolver cancro da mama nas mulheres pós-menopausa, não sendo observada esta associação nas mulheres pré-menopausa. É observado também um aumento do risco associado a uma ingestão nutricional desequilibrada, principalmente pela elevada ingestão de gorduras e de álcool, apesar de os estudos não serem ainda consistentes pela confluência com outros factores de risco (Tabela 1) (Dixon, 2006; Pruthi, *et al.*, 2007; WHO, 2006b).

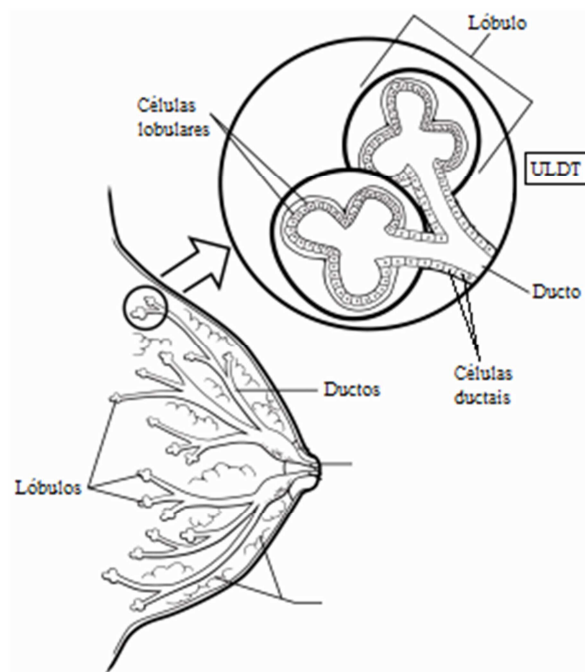
**Tabela 1. Factores de risco e risco relativo no grupos mais propensos a desenvolver cancro da mama (Adaptado de Dixon, 2006).**

<b>Factor de Risco</b>	<b>Risco Relativo</b>	<b>Grupo de Maior Risco</b>
Idade	>10	Idade mais avançada
Idade da menarca	3	Antes dos 12 anos
Idade da menopausa	2	Depois dos 55 anos
História familiar	≥2	Antecedentes em familiares de 1º grau
Idade da primeira gestação	3	Nulíparas ou 1ª gestação após 40 anos
Doença benigna prévia	4-5	Hiperplasia atípica
Cancro na outra mama	>4	
Dieta	1,5	Elevada ingestão de gorduras saturadas
Peso corporal		
Pós-menopausa	0,7	Índice de massa corporal > 35
Pré-menopausa	2	Índice de massa corporal > 35
Consumo de álcool	1,3	Consumo excessivo
Exposição a estrogénios exógenos		
Contraceptivos orais	1,24	Uso corrente
Terapia de reposição hormonal	1,35	Uso ≥ 10 anos

A diferença na incidência do cancro da mama entre os países desenvolvidos e em desenvolvimento pode também ser explicada pela combinação de factores de risco: dieta, sedentarismo, primeira gestação mais tardia, menor paridade e tempo de aleitamento materno mais curto. Assim como a variação geográfica na incidência ser parcialmente explicada pelos factores ambientais que influenciam o desenvolvimento da doença (WHO, 2006b).

### 3. CLASSIFICAÇÃO

A glândula mamária (Figura 4), vulgo mama, é recoberta por pele e tecido subcutâneo e está inserida no músculo peitoral. É constituída pelo parênquima e estroma, separados pela membrana basal. O parênquima é composto por unidades lobulares ductais terminais e um sistema ductal. As unidades lobulares ductais são formadas por um lóbulo e um ducto terminal, às quais corresponde a porção secretora da glândula. A maior parte do estroma é constituída por tecido conjuntivo denso e tecido adiposo, estroma intralobular, que contém fibras elásticas que provêm sustentação (Cotran, *et al.*, 2000; Rosai & Ackerman, 2004).



**Figura 4. Representação esquemática da glândula mamária, pormenor da unidade lobular ductal terminal (ULDT) (ACS, 2010).**

Era aceite que os tumores mamários derivavam das células dos ductos ou das dos lóbulos, porém actualmente é sabido que derivam das células epiteliais da unidade ducto-lobular. Apesar de a terminologia não ser a mais correcta, os tumores mamários são classificados em carcinoma ductal e carcinoma lobular. Se os tumores ficarem limitados à unidade ducto-lobular, não ultrapassando a membrana basal e invadindo o estroma mamário, são designados de carcinomas *in situ*. Caso contrário de carcinomas invasores (Dixon, 2006; Rosai & Ackerman, 2004).

A classificação dos tumores ser subdividida em 5 grupos: carcinoma ductal in situ, carcinoma ductal invasor, lobular in situ, lobular invasor e carcinoma misto. A designação do último assenta no facto de possuir os dois componentes, ductal e invasor. Os carcinomas ductais e lobulares invasores são ainda divididos em diversas variantes, de acordo com as características citomorfológicas (Cotran, *et al.*, 2000; Dixon, 2006).

#### 4. ESTADIAMENTO E INDICADORES PROGNÓSTICOS

O estabelecimento das características anatómicas e biológicas dos tumores é determinante para a previsão do prognóstico do cancro da mama.

O sistema de classificação TNM, internacionalmente estabelecido para o estadiamento dos tumores, descreve a extensão anatómica do tumor primário (T, de T1 a T4) (Figura 5), a presença ou ausência de metastização regional axilar (N, de N0 a N3) e de metastização à distância (M, de M0 a M1) (Sobin, *et al.*, 2009).

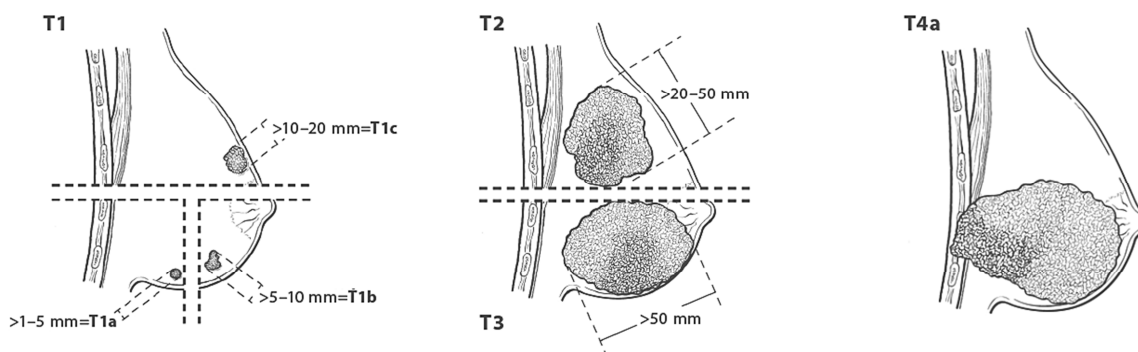


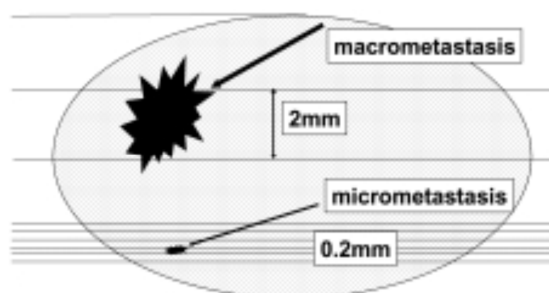
Figura 5. Classificação TMN: categorização das dimensões do tumor (T) (AJCC, 2009).

A classificação clínica (cTNM) é estabelecida através da reunião de evidências da examinação física, de exames imagiológicos e do resultado anatomopatológico da biopsia do tumor, de forma a fornecer recomendações para o tratamento local do mesmo (Edge *et al.*, 2010).

A classificação patológica (pTMN) reúne os dados clínicos com a informação recolhida da exploração intraoperatória e da examinação patológica do tumor. A avaliação histopatológica do tumor é efectuada em cortes definitivos em parafina corados pela

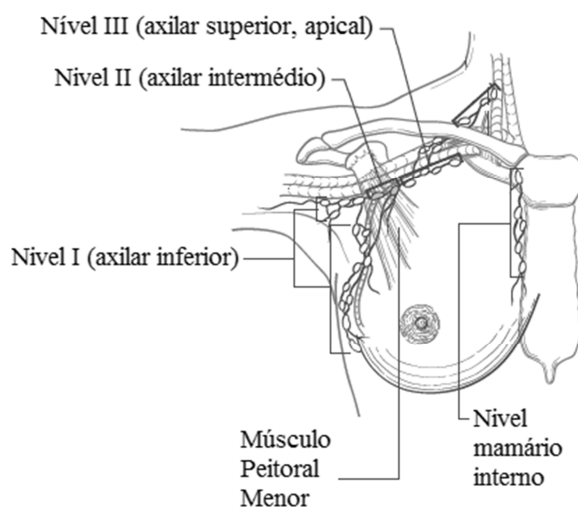
coloração de referência Hematoxilina-Eosina (H&E). Engloba a descrição do tipo histológico, a avaliação das margens de ressecção cirúrgica e a determinação do estado de metastização axilar e à distância (caso se aplique). Providencia informação complementar para o estabelecimento da necessidade de tratamento posterior (Edge, *et al.*, 2010).

Esta classificação subdivide as metástases axilares em macro e micrometátases e células isoladas (Figura 6). Aglomerados de células isoladas quando inferiores a 0,2mm, micrometástase se entre 0,2 e 2mm, macrometástase quando superior a 2mm. (Sobin, *et al.*, 2009).



**Figura 6. Definição de micro e macrometastase (Kurosumi & Takei, 2007).**

Classifica a presença de metástases de pN1 a pN3 consoante o número de gânglios metastizados: de 1 a 3, de 4 a 9 e mais de 10 gânglios, respectivamente. A categoria pN3 está ainda subdividida em a, b e c conforme a localização dos gânglios metastizados, respectivamente: nível I (inferiores ao músculo peitoral menor); nível II (laterais ao mesmo músculo) e nível III (superiores ao mesmo) (Edge, *et al.*, 2010).



**Figura 7. Representação esquemática dos três níveis ganglionares axilares (AJCC, 2009).**

O sistema TNM permite o estadiamento dos tumores em grupos prognósticos: do estadio I a IV (Tabela 2) (Edge, *et al.*, 2010).

**Tabela 2. Estadiamento dos tumores.**

Estádios	Classificação TNM
I	T1, N0, M0
II	T1, N1, M0; T2, N0–1, M0
III	Any T, N2–3, M0; T3, any N, M0; T4, any N, M0
IV	Any T, any N, M1

O sistema de classificação TNM é uma ferramenta de prognóstico essencial, porém não reflecte parâmetros biológicos, não prognósticos, mas como factores preditivos da resposta aos tratamentos. É um procedimento de rotina, a determinação por imunohistoquímica do estado hormonal para os receptores de estrogénio (RE) e progesterona (Jensen, *et al.*, 2010) e da expressão do receptor membranar HER2/neu. A sobre-expressão do RE está associada a uma melhor resposta ao tratamento com tamoxifen. A sobre-expressão/amplificação do receptor/gene HER2 reflecte uma menor sobrevida em doentes com metastização axilar e é um factor preditivo da resposta a quimioterapia dirigida, com o anticorpo monoclonal, *trastuzumab*, ou o inibidor da tirosina quinase, *lapatinib* (WHO, 2006a).

A graduação dos tumores é recomendada para todos os tumores invasores. O sistema de classificação de Scarff-Bloom-Richardson Elston-Ellis modificada avalia o grau de diferenciação do tumor. Combina o grau nuclear, a formação tubular e a taxa mitótica do tumor. A cada um é atribuída a classificação de 1 a 3. O somatório das 3 classificações agrupará os tumores em 3 graus (I,II,III). Grau I corresponde a tumor bem diferenciado (pontuação de 3 a 5), grau II a diferenciação intermédia (pontuação 6 e 7) e grau III a pouco diferenciados (pontuação de 8 e 9) (Dixon, 2006).

O Índice Prognóstico de Nottingham (IPN) é uma ferramenta que agrupa as características da classificação TNM com o grau do tumor (Edge, *et al.*, 2010). O cálculo é

efectuado segundo a seguinte formula: tamanho da lesão em cm X 0,2 + estadio nodal + grau histológico. Quanto menor o valor do IPN, melhor o prognóstico

Tabela 3) (Tood, *et al.*, 1987).

**Tabela 3. Relação do IPN e o prognóstico da doença.**

Valor IPN	Prognóstico
<3,4	Bom prognóstico
3,4-5,4	Prognóstico Intermédio
>5,4	Mau prognóstico

## II. CIRURGIA MAMÁRIA

A abordagem multidisciplinar no tratamento do cancro da mama, envolvendo cirurgiões, radiologistas, patologistas, oncologistas, deve ser considerada por forma a integrar terapias locais e sistémicas (Aebi, *et al*, 2010). A biopsia eco-guiada substituiu gradualmente a biopsia cirúrgica na avaliação inicial das lesões mamárias, pelo que o diagnóstico definitivo aguarda a excisão da lesão, pelo fornecimento de informação precisa sobre o estadiamento do tumor e avaliação da resposta aos tratamentos (Huo, 2011).

A abordagem cirúrgica como tratamento do cancro da mama valoriza a aplicação num procedimento localizado, que salvaguarda o resto do corpo, produzindo os efeitos terapêuticos desejados. A remoção do tumor e os menores danos colaterais são o principal objectivo, pelo que a maioria das mulheres com cancro da mama são submetidas a cirurgia. Apesar das implicações estéticas a esta associadas, reconstrução mamária pode ser efectuada no seguimento ou posteriormente à cirurgia, caso necessário. A cirurgia mamária inclui as opções: cirurgia conservadora, na qual se englobam a biopsia excisional, a tumorectomia e a mastectomia segmentar; e mastectomia. A adopção de uma das opções depende do tipo e extensão do tumor. A cirurgia pode ainda ser utilizada para a avaliação ganglionar axilar (Aebi, *et al.*, 2010; Huo, 2011).

### 1. ABORDAGEM CONSERVADORA DA AXILA

Com programas de rastreio e o uso frequente da mamografia, aumentou o número de casos de cancro da mama diagnosticados em fases iniciais com gânglios axilares negativos, surgindo a necessidade de avaliar outros procedimentos de estadiamento para estes doentes (WHO, 2006b).

Casos de lesões malignas da mama, diagnosticadas por biopsia, sem evidência clínica e imagiológica de invasão ganglionar, o que pretere a realização de biopsia ganglionar prévia à cirurgia, a adopção do método da abordagem cirúrgica minimamente invasiva da axila, com avaliação intraoperatória do gânglio sentinela, é o aconselhado (ASCO, 2005; SPN, 2008).

A ausência de um método, não invasivo e eficaz, com capacidade de estabelecer a ausência ou presença de metastização ganglionar, a dissecação dos gânglios axilares permanece um procedimento necessário. A sua realização durante a cirurgia mamária

permite determinar a verdadeira necessidade de esvaziamento axilar, evitando uma segunda intervenção no caso de metastização positiva. E tem vindo a comprovar uma redução significativa no número de esvaziamentos injustificáveis, em cerca de 61,4 a 83,3% dos doentes submetidos a avaliação intraoperatória do gânglio sentinela (Wang, *et al.*, 2011). Porém, a abordagem conservadora da axila não é recomendada em casos como o de cancro em estadio avançado (T3 ou T4), carcinoma inflamatório, da presença de nódulos axilares palpáveis, entre outros (ASCO, 2005; SPN, 2008).

A principal preocupação desta abordagem visa a morbilidade associada ao esvaziamento axilar, quando dispensável. Danos no plexo nervoso podem ocorrer aquando da dissecação ganglionar, sendo no entanto menor a probabilidade de se suceder apenas pela dissecação do gânglio sentinela do que pelo esvaziamento (Dixon, 2006).

O nervo sensorial intercostobranquial é comumente atingido e a sua afectação provoca no ombro e braço dormência e parestesias, como rigidez do movimento, espasmos, ataxia. A excisão do plexo linfático, pela ausência de sistema de drenagem linfática, é responsável por provocar linfedema do braço na maioria dos casos, sendo mais severo no caso de esvaziamento radical. Não existindo tratamento satisfatório, o problema pode ser apenas controlado pela minimização dos sintomas. Lesões infecciosas são ainda responsáveis por cerca de 5% das complicações provenientes do procedimento axilar. Seromas desenvolvem-se com uma frequência de cerca de 50% em situações de esvaziamento total e de apenas 5% nas de dissecação do gânglio sentinela sem esvaziamento posterior (Layfield, *et al.*, 2011; Wang, *et al.*, 2011).

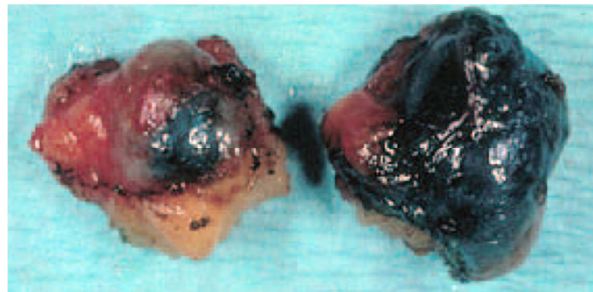
## **2. PESQUISA INTRAOPERATÓRIA DO GÂNGLIO SENTINELA**

A designação de gânglio sentinela é aplicada ao gânglio, do plexo ganglionar anatomicamente mais próximo, ao qual células cancerígenas do tumor primário especificamente atingem primeiramente, através da drenagem pelos vasos linfáticos (Lorand *et al.*, 2011).

Durante a cirurgia, o mapeamento do gânglio sentinela pode ser realizado por dois métodos: injeção de um corante, nomeadamente o Azul de *Isosulfan* ou Azul Patente V (Figura 8), ou de uma substância colóide radioactiva (linfocintigrafia), na zona do tumor e é visualizado/detectado o gânglio ao qual este se dirige primeiro, sendo este enviado para exame extemporâneo (Dixon, 2006; Jensen, *et al.*, 2010). A utilização do corante é o mais

consensual e o mais frequentemente empregue a nível mundial, uma vez ser uma solução aquosa inerte, sem propriedades fisiológicas ou farmacológicas, em contradição com a substância radioactiva que apresenta as contra-indicações associadas à sua aplicação e manuseamento (Cserni, 2000).

Porém, na maioria dos doentes não se verifica apenas um gânglio sentinela e cerca de 25% de todas as metástases ganglionar não se verificam nos gânglios sentinela mais marcados (Dixon, 2006). Cirurgiões preferem optar por um maior número de gânglios removidos, combinando com uma amostragem axilar de nódulos palpáveis suspeitos, por forma a reduzir os falsos negativos, não devendo no entanto exceder 4 gânglios.



**Figura 8. Gânglios sentinela identificados após injeção de Azul Patente V (Dixon, 2006).**

### **3. ESVAZIAMENTO GANGLIONAR AXILAR**

A positividade para metastização ganglionar, inclusive de micrometástases, é indicativa de esvaziamento ganglionar axilar, porém a presença de células tumorais isoladas é indicativa da conservação da axila, uma vez existir ainda controvérsia quanto ao seu real valor prognóstico (ASCO, 2005; SPN, 2008). A presença de micrometástases está associada a 20% dos casos de manutenção de doença axilar (Wang, *et al.*, 2011). Células isoladas parecem apresentar baixo risco de restante metastização axilar (Cserni *et al.*, 2004). Porém, outros estudos revelam incerteza clínica em ambos os casos, defendendo que em doentes com micrometástases ou presença de células isoladas, poderiam ser adoptadas outras terapias, rejeitando o esvaziamento axilar (Wang, *et al.*, 2011). A negatividade, por sua vez, apresenta ainda 1% de probabilidade de metastização axilar (Francz, *et al.*, 2011).

As opções cirúrgicas para a linfadenectomia axilar podem envolver até aos 3 níveis regionais: remoção dos gânglios dos níveis I e II, se apenas o nível I estiver envolvido, ou total, níveis I, II e III. É prática comum a adopção de linfadenectomia total, pela dilecção da cura em relação à morbilidade a esta associada. É justificada ainda por estatísticas que mostram que com apenas um gânglio do nível I metastizado, a probabilidade de gânglios do nível II e III se apresentarem envolvidos é de 12,5%, e a probabilidade aumenta para 50% no caso de gânglios do nível II metastizados em relação ao nível III (Dixon, 2006; SPN, 2008).

### III. EXAME EXTEMPORÂNEO DO GÂNGLIO SENTINELA

O exame extemporâneo histopatológico tem por objectivo reflectir com precisão e rapidez o estado geral da axila durante a cirurgia de remoção da lesão. Estudos mostram que 30% das mulheres sem metastização ganglionar apresentarão doença metastática do mesmo tumor no prazo de 5 anos, pelo que é levantada a questão de que metástases subclínicas, ocultas ou micrometástases, terão passado despercebidas (Abdul-Rasool, 2006).

O seu rigor visa evitar resultados discordantes dos da posterior análise histológica em cortes de tecido embebidos em parafina dos gânglios linfáticos e as respectivas consequências indesejadas. Um resultado falso-negativo vai acarretar uma segunda cirurgia para remoção da axila metastizada, com implicações para o doente e custos acrescidos para a entidade de saúde. Face a um falso-positivo, a morbilidade associada ao esvaziamento axilar completo incluirá consequências permanentes evitáveis (Benson & Wishart, 2010; Kurosumi & Takei, 2007).

Estudos recentes mostram que a avaliação extemporânea do gânglio sentinela apresenta uma precisão que varia entre 93,0 e 97,1% e cuja taxa de falsos negativos varia entre 5,5 e 22,9% (Wang, *et al.*, 2011).

Vários métodos estão descritos para a avaliação intraoperatória do gânglio sentinela. *Imprints* citológicos e cortes de congelação corados pela coloração de Hematoxilina-Eosina (H&E), aplicação de uma técnica rápida de imunohistoquímica em cortes de congelação ou *imprints* e, mais recentemente, técnicas moleculares (Chan *et al.*, 2011; Choi, 2006; Lorand, *et al.*, 2011).

Os mais comumente utilizados são os *imprints* e os cortes de congelação. Ambos, utilizados individualmente ou em conjunto, são relativamente rápidos, de forma a dar uma resposta em tempo útil, uma vez que a cirurgia aguarda o diagnóstico para prosseguir (Layfield, *et al.*, 2011; Memar *et al.*, 2010).

A superioridade entre eles continua por esclarecer, apesar de vários estudos a atribuírem aos cortes de congelação (Mori *et al.*, 2006). Ambos apresentam vantagens e desvantagens, sendo a principal desvantagem, associada aos dois, o facto de o diagnóstico ser observador dependente e de examinarem uma proporção reduzida do volume total do gânglio (Layfield, *et al.*, 2011).

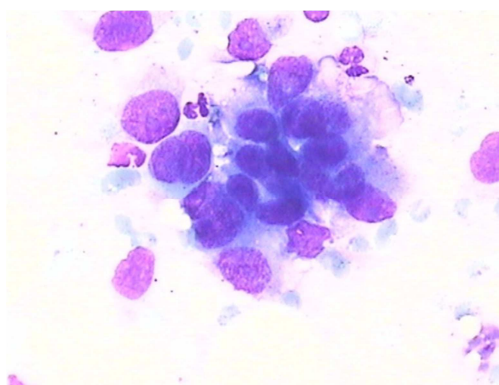
A dimensão dos gânglios é considerada aquando da amostragem para diagnóstico. Inferiores a 0,5cm são seccionados longitudinalmente em 2 porções e superiores a 0,5cm em secções de 2mm de espessura (Shiller, *et al.*, 2011).

### **1. ESFREGAÇOS CITOLÓGICOS**

Os esfregaços citológicos, vulgo *imprints*, (Figura 9) consistem em pressionar a zona de corte do gânglio sentinela sobre uma lâmina de vidro ou realizar um esfregaço com um raspado da mesma zona. Na lâmina ficarão aderidas células para a avaliação microscópica, que após fixação em álcool 96% são submetidas à coloração de H&E ou de Papanicolaou (Cserni, 2000).

Como vantagens apresentam os baixos custos e facilidade e tempo de execução. Destaca-se também a não formação de artefactos ou perda de tecido em comparação com os cortes de congelação (Hamidian *et al.*, 2009).

O reduzido número de células avaliadas, a falta de estrutura morfológica apresentam-se como desvantagens (Layfield, *et al.*, 2011; Memar, *et al.*, 2010). Assim como a análise de aglomerados celulares, uma vez não permitir a distinção entre micro e macrometástases (Benson & Wishart, 2010). Ainda a dificuldade do diagnóstico em citologia. Células benignas, como células endoteliais activas, células de centro folicular e histiócitos epitelióides, sem contexto estrutural, podem apresentar características suspeitas induzindo no erro, imperando a necessidade de elevada experiência do patologista em análise citológica (Hamidian, *et al.*, 2009).



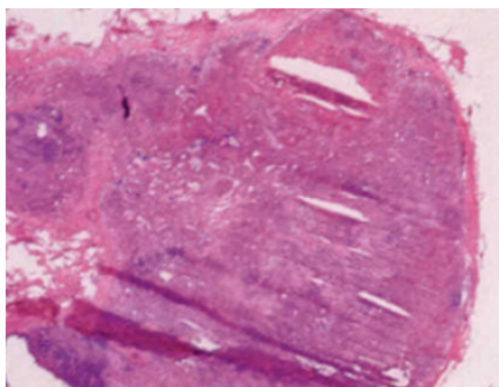
**Figura 9. Aglomerado celular em *imprint* citológico de gânglio sentinela metastizado (Fotou *et al.*, 2007).**

## 2. CORTES DE CONGELACÃO

Após a análise macroscópica é retirado um fragmento para a realização de cortes de congelação. Consiste em colocar o fragmento num molde, envolto num meio de congelação rápido, e este numa câmara congeladora, onde após congelação serão realizados os cortes, designado de crióstato. O corte é efectuado a uma espessura de 5-6µm, apanhados numa lâmina que, após fixação em álcool a 96%, é corado pela coloração de H&E para visualização microscópica.

Em relação aos *imprints*, os cortes de congelação são providos de estrutura morfológica e possuem um maior número de células para avaliação, facilitando a atribuição do diagnóstico pelos patologistas. As desvantagens prendem-se nos custos elevados, pela necessidade de um aparelho dispendioso para a realização dos cortes (crióstato), na morosidade do processo, em comparação com a realização de *imprints*, e na perda do material na preparação e realização dos cortes pela necessidade de vários níveis de corte (Layfield, *et al.*, 2011).

Apresenta ainda como desvantagem a reduzida integridade e definição morfológica dos cortes, apresentando-se distorcidos, enrugados ou fendidos, quando em comparação com os cortes de fragmentos embebidos em parafina para diagnóstico (Figura 10). Este facto deve-se principalmente ao denso tecido adiposo adjacente aos gânglios linfáticos ou à sua própria transformação adiposa (Kurosumi & Takei, 2007).



**Figura 10. Corte de congelação de gânglio sentinela, não evidenciando a presença de metástases (Dixon, 2006).**

### **3. OUTROS MÉTODOS**

De forma a contornar as dificuldades e superar os resultados obtidos, em termos de precisão e sensibilidade, das metodologias de cortes de congelação e *imprints* citológicos, várias técnicas, diferentes ou complementares a estas, têm sido propostas.

#### *a. IMUNOCITOQUÍMICA*

Com o objectivo de melhorar a precisão dos exames extemporâneos convencionais, *imprints* e cortes de congelação, uma técnica de imunocitoquímica ultra-rápida para a detecção de citoqueratinas tem sido apresentada como a solução, uma vez que estas não se encontram presentes nos gânglios. Apresenta as mesmas desvantagens associadas à realização dos cortes de congelação e *imprints*, anteriormente descritas. Porém a sua utilização tem demonstrado um aumento da sensibilidade na detecção de micrometastases.

#### *b. BIOLOGIA MOLECULAR*

Vários estudos têm vindo a demonstrar a utilidade da abordagem molecular para avaliar a presença de metástases de cancro da mama no gânglio sentinela. Baseiam-se na detecção e quantificação da expressão do mRNA de marcadores genéticos da mama. Duas técnicas têm sido largamente descritas: *quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction* (qRT-PCR) e *one step nucleic acid amplification* (OSNA) (Baker, 2003; Tsujimoto *et al.*, 2007; Veys *et al.*, 2009; Visser *et al.*, 2008).

As técnicas de biologia molecular têm a capacidade de ultrapassar a probabilidade de erro de amostragem dos cortes de congelação ou *imprints*, uma vez que podem utilizar todo o material do gânglio sentinela, através da homogeneização do tecido e pesquisa da presença de marcadores genéticos. Apresentam ainda como vantagem, o despiste de erros associados ao observador pela automatização. Como desvantagens é destacado o facto de o material não poder ser posteriormente reavaliado por outras técnicas,

A inexistência de marcadores genéticos ideais, que se expressassem nas células tumorais da mama e estejam ausentes de todos os tecidos não neoplásico, coloca a citoqueratina 19 (CK19) e a mamoglobina (MGB) nos mais adequados na avaliação do cancro da mama. Estão expressos na maioria dos tumores, sobre-expressos, e ausentes no tecido ganglionar (Backus *et al.*, 2005; Dell'Orto *et al.*, 2006).

A técnica de qRT-PCR detecta o mRNA através da conversão a cDNA pela enzima transcriptase reversa, o qual é amplificado utilizando a metodologia de sondas TaqMan. Pela adição de uma sonda marcada com um fluorocromo, específica para uma sequência da sequência-alvo, durante a fase de extensão a Taq polimerase cliva a sonda, havendo emissão de fluorescência, a qual é detectada e quantificada. Necessita de extracção prévia do RNA. É passível da utilização de um ou mais marcadores. (Cunnick *et al.*, 2008; Huber *et al.*, 2003).

Na técnica de OSNA é uma variante do PCR. Utiliza também a transcriptase reversa para converter o mRNA em cDNA, mas a replicação é realizada através da *loop-mediated isothermal amplification* (RT-LAMP). Emprega 6 pares de *primers*, específicos para a mesma sequência alvo de cDNA, de forma a provocar um enrolamento das cadeias durante a fase de amplificação, havendo libertação de pirofosfatos. Estes interagem com magnésio originando um precipitado. A taxa de precipitação, turbidimetria, em solução é utilizada para a quantificação. Não requer extracção prévia, é utilizado directamente um lizado de um homogeneizado do gânglio. Pela utilização de seis pares de primers, o OSNA é realizado apenas para um marcador tumoral, a CK19 (Visser, *et al.*, 2008).

### c. ESPECTROSCOPIA DE DISPERSÃO ELÁSTICA

Este método, também designada de espectroscopia de Raman, detecta as alterações da arquitectura celular das células tumorais, através da alteração da absorção de luz e das propriedades de dispersão. Permite analisar, por cada feixe de luz, uma porção de fragmento com 5 mm de diâmetro e 1 mm de espessura, cujo retorno de sinal é analisado por um computador e avaliadas as características e a anormal proporção do tamanho relativo dos constituintes celulares, núcleo e mitocôndrias (Horsnell *et al.*, 2010).

Este método permite a análise intraoperatória sem a necessidade da presença de um patologista. Outras vantagens incluem preparação mínima do tecido para análise, ausência de perda de material, resultados instantâneos e baixos custos de execução. Porém, a espessura máxima de análise de 1 mm apresenta a mesma desvantagem presente nos cortes de congelação, pela possibilidade de erros de amostragem (Horsnell *et al.*, 2010).

#### IV. OBJECTIVOS

A avaliação extemporânea do gânglio sentinela, pela qualidade de vida cuja preservação dos gânglios axilares assegura, exige a utilização de metodologias precisas. A precisão é de difícil obtenção, pelo que a análise dos métodos actualmente utilizados de forma a estudá-los e avaliá-los é de extrema importância. Garantir os melhores resultados pela utilização do melhor método, preciso e custo-benéfico, é o objectivo da nossa instituição.

A realização deste trabalho tem por objectivos:

- Reflectir a realidade da nossa instituição no âmbito da avaliação intraoperatória do gânglio sentinela no cancro da mama;
- Avaliar a precisão dos métodos de análise extemporânea utilizados;
- Propor medidas correctivas adequadas de forma a melhorar o desempenho dos métodos de análise intraoperatória utilizados
- Verificar a existência de factores preditivos de maior probabilidade de metastização ganglionar;
- Averiguar a real necessidade da utilização de métodos de análise alternativos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

---

## I. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Um total de 139 pacientes do sexo feminino com cancro da mama, submetidas a cirurgia mamária em abordagem conservadora da axila, com avaliação intraoperatória do gânglio sentinela pelo Serviço de Anatomia Patológica (SAP), na Unidade Local de Saúde de Matosinhos, EPE - Hospital Pedro Hispano, desde o ano de 2009 até Junho de 2011.

## II. METODOLOGIA

Recolha de dados, dos casos acima referidos, através do programa informático do SAP, cujo critério de selecção foi a reunião de informação recente, por forma a reflectir a realidade mais actual. Os parâmetros da informação recolhida relativa aos procedimentos utilizados no exame extemporâneo do(s) gânglio(s) sentinela e às características histopatológicas descritas sobre os respectivos tumores são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4. Parâmetros da informação recolhida sobre os casos de estudo.**

Âmbito	Parâmetros
<b>Exame Extemporâneo</b>	Nº de gânglios Nº de <i>imprints</i> Nº de cortes de congelação Resultado histopatológico extemporâneo (positivo/negativo)
<b>Características Histopatológicas do Tumor</b>	Tipo histológico Dimensão (<2 cm; 2-5 cm; >5cm) Metastização ganglionar (positivo/negativo) Grau de Bloom/Richardson (Elston Modificado) (I,II,III) Índice de Prognóstico de Nottingham (<3,4; 3,4-5,4; >5,4) Receptores hormonais RE e RP (positivo/negativo) Expressão do receptor HER2 (positivo/negativo)

O método empregue no SAP do hospital referido, para a realização dos exames extemporâneos, engloba um médico patologista e um técnico de anatomia patológica. Os gânglios para análise intraoperatória são enviados pelo cirurgião sem fixador. No SAP, o médico patologista identifica o(s) gânglios(s) e secciona-os longitudinalmente. A aplicação da técnica de *imprints* e/ou cortes de congelação depende da avaliação do médico, tendo

em conta as características macroscópicas e número de gânglios. Geralmente são realizados *imprints* em todos os gânglios, em número médio de 2 por gânglio, e cortes de congelação no gânglio mais corado de azul, mais suspeito ou de maiores dimensões. Os *imprints* ou esfregaços, com material extraído da amostra enviada, são realizados pelo médico e colocados em fixador (álcool a 96%) e a recolha de fragmentos para cortes de congelação também é da sua competência. Usualmente é colhido um fragmento por gânglio e efectuados cortes de congelação a um nível. Os cortes de congelação são realizados pelo técnico no crióstato e colocados no mesmo fixador, acima referido. Ambos, *imprints* e cortes de congelação, são corados pela coloração H&E pelo técnico. A interpretação dos mesmos e atribuição do diagnóstico histopatológico fica ao cargo do patologista.

O estadiamento, graduação e caracterização dos tumores é da responsabilidade médica. Após exame extemporâneo, o(s) gânglio(s) sentinela destinam-se ao processamento histológico, assim como a peça operatória da cirurgia decorrente, para avaliação definitiva, após inclusão em parafina, em cortes corados por H&E. Técnicas complementares de diagnóstico são ainda empregues, como imunohistoquímica e imunofluorescência para a caracterização quanto à positividade para receptores hormonais e amplificação do gene HER2, respectivamente, ou outros marcadores.

A metodologia apresentada foi empregue nos casos sobre os quais foi recolhida a informação supra mencionada.

### III. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos em frequências absolutas e relativas. Para comparar variáveis ordinais usou-se o teste de *Mann-Whitney*. As variáveis nominais foram estudadas com aplicação do teste de *Qui-quadrado*.

Para determinar a diferença na proporção de resultados negativos e positivos do exame extemporâneo e do exame histológico foi utilizado o teste de *McNemar*, teste não paramétrico para duas amostras emparelhadas nominais.

A influência das diferentes características, dos casos amostrados, nos resultados dos exames extemporâneos foi verificada pela análise da associação entre as variáveis e os

resultados comparados do exame extemporâneo e exame histológico, através de testes para comparação de amostras independentes. Para as variáveis racionais (número de gânglios, de *imprints* e de cortes de congelação) foi empregue o teste de *Mann-Whitney*. Para as variáveis nominais (tipo histológico, metastização ganglionar, receptores RE, RP e HER2) e ordinais (dimensão, grau de *Bloom/Richardson* e Índice de Prognóstico de *Nottingham*) foi empregue o teste *Qui-quadrado*. Para esta análise foi feita uma divisão dos casos em concordantes e discrepantes, correspondente a verdadeiros positivos e verdadeiros negativos, e a falsos positivos e falsos negativos, respectivamente.

Os resultados foram estimados usando o intervalo de confiança de 95%. O nível de significância admitido foi de 0,05. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa *PASW Statistics 18*.

#### IV. ÉTICA

O estudo foi aprovado pela Directora do Serviço de Anatomia Patológica, Dr.<sup>a</sup> Mrinalini Honavar, e pela Comissão de Ética do Hospital Pedro Hispano. Não foi necessário solicitar consentimento informado, dado que não houve acesso directo ao doente. Foi respeitada a confidencialidade, anonimato e pressupostos éticos conforme a Lei n.º 67/98, de 26 de Outubro e a “Declaração de Helsínquia” da Associação Médica Mundial (Helsínquia 1964; Tóquio 1975; Veneza 1983; Hong Kong 1989; Somerset West 1996, Edimburgo 2000; Washington 2002, Tóquio 2004, Seul 2008).

## **RESULTADOS**

---

## I. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

### 1. POPULAÇÃO

O número de doentes com cancro da mama submetidos a cirurgia mamária conservadora da axila diminuiu no ano de 2010, de 66 para 47 cirurgias. Em 2011, até ao mês de Julho, foram realizadas 26 (Tabela 5). O escalão etário com maior frequência de doentes é o dos 51 aos 60 anos, com um valor de 33,1%, apresentando-se com a mesma distribuição em todos os anos (Tabela 6).

**Tabela 5. Frequências absolutas e relativas dos parâmetros de caracterização da população.**

Amostra (n=139)	Casos	
	Nº	%
<b>Ano</b>		
2009	66	47,5
2010	47	33,8
2011	26	18,7
<b>Grupo etário</b>		
30-40	7	5,0
41-50	35	25,5
51-60	46	33,1
61-70	23	16,5
71-80	25	18,8
81-90	3	2,2

**Tabela 6. Distribuição dos grupos etários nos anos estudados.**

Grupo etário	Ano			Total
	2009	2010	2011	
30-40	4	3	0	7
41-50	18	11	6	35
51-60	21	15	10	46
61-70	12	5	6	23
71-80	9	12	4	25
81-90	2	1	0	3
<b>Total</b>	66	47	26	139

## 2. TUMORES

A caracterização dos tumores, pela avaliação em cortes definitivos em parafina, revelou que o tipo histológico mais frequente é o carcinoma ductal invasor (76,3%) (Tabela 7).

**Tabela 7. Número de resultados e frequências absolutas e relativas dos parâmetros de caracterização dos tumores.**

Amostra (n=139)	Nº	%	Nº resultados
<b>Tipo Histológico</b>			<b>139</b>
Carcinoma Ductal In-Situ	14	10,1	
Carcinoma Ductal Invasor	106	76,3	
Carcinoma Lobular Invasor	15	10,8	
Carcinoma Invasor Misto	4	2,9	
<b>Dimensões (cm)</b>			<b>139</b>
<2	81	58,3	
2-5	51	36,7	
>5	7	5,0	
<b>Metastização Axilar</b>			<b>139</b>
Positivo	43	30,9	
Negativo	96	69,1	
<b>Estadio</b>			<b>137</b>
I	58	41,7	
II	63	45,3	
III	16	11,5	
IV	0	0	
Não atribuídos	2		
<b>Grau</b>			<b>117</b>
I	14	10,1	
II	65	46,8	
III	38	27,3	
Não atribuídos	2		
<b>IPN<sup>1</sup></b>			<b>53</b>
Bom prognóstico (<3,4)	14	10,1	
Prognóstico Intermédio (3,4-5,4)	30	21,6	
Mau prognóstico (>5,4)	9	6,5	
Não atribuídos	86	61,9	
<b>RE<sup>2</sup></b>			<b>136</b>
Positivo	110	79,1*	
Negativo	26	18,7*	
Não atribuídos	3		
<b>RP<sup>3</sup></b>			<b>136</b>
Positivo	101	72,7*	
Negativo	35	27,2*	
Não atribuídos	3		
<b>HER-2<sup>4</sup></b>			<b>136</b>
Positivo	62	44,6*	
Negativo	74	53,2*	
Não atribuídos	3		

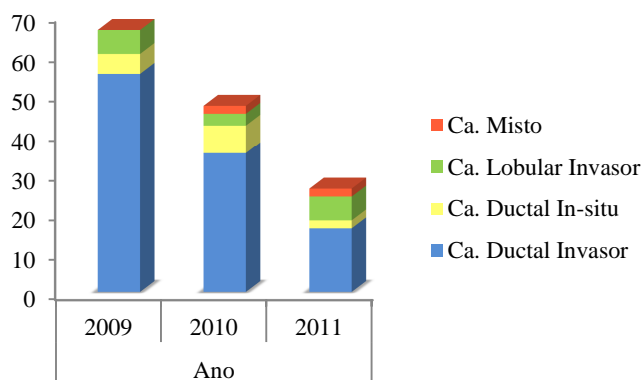
<sup>1</sup> Índice de Prognóstico de Nottingham

<sup>2</sup> Receptor de Estrogénios

<sup>3</sup> Receptor de Progesterona

<sup>4</sup> Receptor membranar HER-2

Este tumor revelou-se ainda o mais frequente em todos os anos de estudo (Gráfico 1). Em 2010, o número de tumores diagnosticados mais precocemente foi superior ao ano anterior, com um aumento de 7,5% para 14,9%. Em 2011, a frequência de tumores *in-situ* regrediu para os 7,7%.

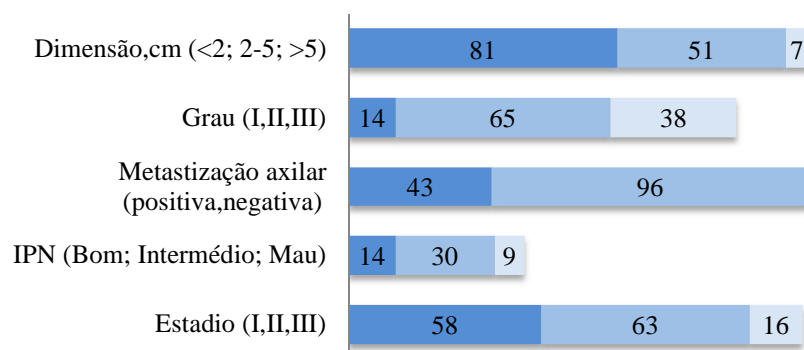


**Gráfico 1. Frequência e Tipo Histológico dos Tumores por Ano.**

Outros parâmetros da classificação dos tumores são apresentados no Gráfico 2. Em 51,8% dos casos, os tumores apresentaram dimensões inferiores a 2cm. Relativamente ao grau de diferenciação e ao IPN, não foram recolhidos resultados para a totalidade dos casos pela sua inexistência, no valor de 15,8% e 38,1% do total de casos, respectivamente. Nestes dois parâmetros, diferenciação de grau II e prognóstico intermédio foram os mais frequentes, representando 46,8% e 21,6% do total dos tumores, respectivamente. Foi diagnosticada metastização axilar em 30,9% dos casos.

Com base nas características anatomopatológicas, os tumores foram agrupados em estádios, correspondendo com maior significado ao estadio I e II (87,0%).

A avaliação dos receptores hormonais, RE e RP, e HER2 foi realizada em 136 dos 139 casos. Os tumores apresentaram positividade em 79,1%, 72,7% e 44,6% do total de casos nos receptores RE, RP e HER2, respectivamente.



**Gráfico 2. Distribuição de resultados pelos diferentes parâmetros de classificação dos tumores.**

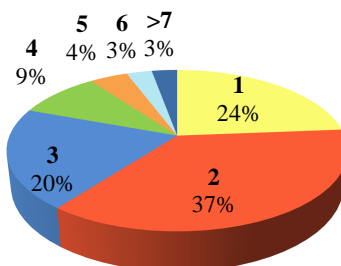
### **3. EXAME EXTEMPORÂNEO**

A Tabela 8 apresenta a frequência absoluta e relativa dos exames extemporâneos realizados por cada parâmetro da informação recolhida.

**Tabela 8. Frequências absolutas e relativas dos parâmetros de caracterização do exame extemporâneo.**

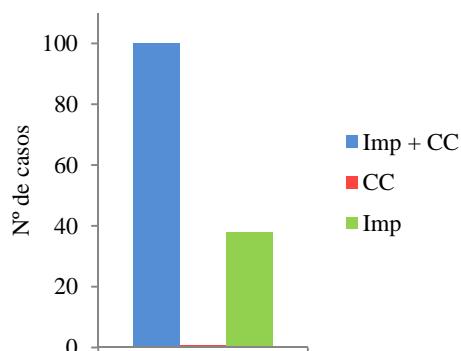
Amostra (n=139)	Casos	
	Nº	%
<b>Nº gânglios extemporâneo</b>		
1	33	23,7
2	51	36,7
3	28	20,1
4	13	9,4
5	6	4,3
6	4	2,9
>7	4	2,9
<b>Nº cortes de congelação</b>		
0	38	27,3
1	35	25,2
2	44	31,7
3	14	10,1
>4	8	5,7
<b>Nº imprints</b>		
0	1	0,7
1	3	2,2
2	33	23,7
3	19	13,7
4	46	33,1
5	2	1,4
6	15	10,8
7	4	2,9
>8	16	11,8
<b>Resultado exame extemporâneo</b>		
Positivo	37	26,6
Negativo	102	73,4

Relativamente ao número de gânglios enviados para exame extemporâneo, este variou entre 1 e 11, sendo que 89,9% dos casos se englobam entre 1 a 4 gânglios (Gráfico 3).



**Gráfico 3. Distribuição relativa do número de gânglios sentinelas enviados para exame extemporâneo.**

A combinação de *imprints* e cortes de congelação observou-se em 100 (71,9%), dos 139 exames extemporâneos, correspondendo aos 39 restantes apenas *imprints* ou cortes de congelação, na frequência de 38 e 1, respectivamente (Gráfico 4).

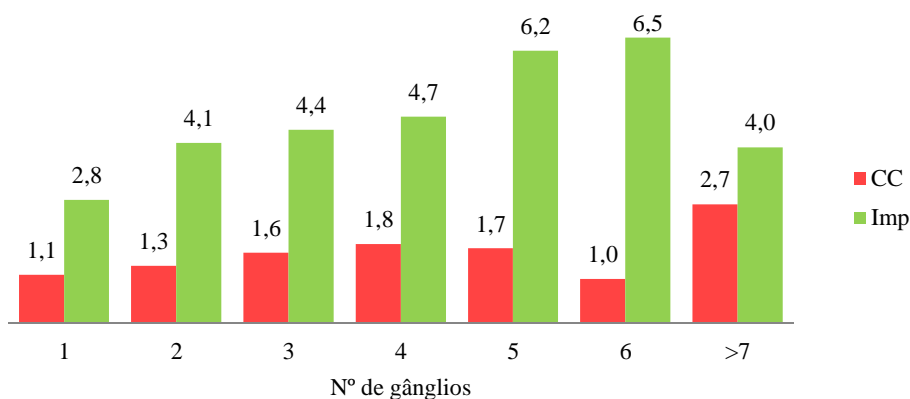


**Gráfico 4. Frequência da metodologia adoptada na realização dos exames extemporâneos.**  
(Imp - *imprints*; CC - cortes de congelação)

O número de *imprints* realizados por exame variou entre 0 e 14, cuja média foi de 4,1, correspondendo 70,5% à realização de 2, 3 ou 4 *imprints*. O número de cortes de congelação variou entre 0 e 6, com uma média foi de 1,4, enquadrando-se 56,9% em 1 e 2 cortes.

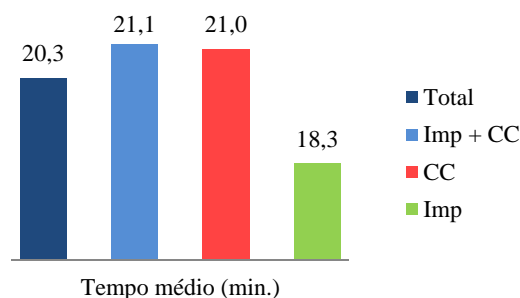
O número de *imprints* realizados apresentou-se crescente com o aumento do número de gânglios (Gráfico 5), com uma média de 2,8 *imprints* para um gânglio e 6,5 para 6 gânglios. Para mais do que 7 gânglios, a média diminuiu para 4,0. O número de cortes de

congelamento não variou muito com o aumento do número de gânglios, apenas nos casos de mais de 7 gânglios, cuja média foi de 2,7.



**Gráfico 5. Média de *imprints* e cortes de congelamento realizados por número de gânglios enviados para exame extemporâneo. (Imp - *imprints*; CC - cortes de congelamento)**

O tempo de realização dos exames extemporâneos variou entre as metodologias, principalmente comparando os cortes de congelamento e os *imprints* (Gráfico 6). Sem especificar a metodologia, o tempo médio foi de 20,3 minutos. Apenas cortes de congelamento ou cortes de congelamento e *imprints* mostraram tempos de execução superiores, com valores médios de 21 e 21,1 minutos, respectivamente. A realização de apenas *imprints* mostrou ser a metodologia mais rápida, com um tempo médio inferior à anteriormente expostas, com um tempo médio de 18,3 minutos.



**Gráfico 6. Tempo médio, em minutos, da realização dos exames extemporâneos, total e por metodologia adoptada.**

O exame extemporâneo forneceu um diagnóstico de positividade para metastização do gânglio sentinela em 37 (26,6%) dos casos.

## II. ANÁLISE DOS RESULTADOS

Para a avaliação do exame extemporâneo, foram comparados os resultados anatomopatológicos do diagnóstico baseado nos cortes de congelação e/ou *imprints* com o diagnóstico obtido com base nos cortes definitivos obtidos das amostras incluídas em parafina (Tabela 9).

**Tabela 9. Relação dos resultados do exame extemporâneo com os definitivos.**

Amostra (n=139)	Resultado Extemporâneo		Total	p
	Positivo	Negativo		
<b>Resultado Histológico</b>				0,146
Positivo	34	9	43	
Negativo	3	93	96	
<b>Total</b>	<b>37</b>	<b>102</b>	<b>139</b>	

A análise comparada demonstrou não haver evidência estatística ( $p=0,146$ ) para afirmar existir diferença entre a proporção de resultados positivos e negativos entre os dois grupos. Obteve-se concordância dos resultados em 127 dos casos e discrepância em 12, correspondendo a uma percentagem de 91,4% e 8,6%, respectivamente. Nos 139 casos estudados, o número de falsos-positivos foi de 3 (2,1%) e o de falso-negativos de 9 (6,4%).

O exame extemporâneo revelou-se em 79,1% dos casos capaz de detectar metástases quando estavam realmente presentes. Em 96,9% capaz de não as detectar quando realmente não existiam. E em 91,4% capaz de dar um resultado realmente correcto de entre todos (

Tabela 10). Mostrou-se 91,9% de capacidade em predizer um resultado positivo, isto é, a probabilidade de um resultado positivo ser realmente positivo. E 91,2% em predizer um resultado negativo: a probabilidade de um resultado negativo ser realmente negativo. Assim a taxa de falsos-negativos revelada foi de 8,8%.

**Tabela 10. Avaliação Estatística do Exame Extemporâneo.**

Parâmetro	Cálculo	Resultado (%)
Sensibilidade	34/43	79,1
Especificidade	93/96	96,9
Valor Preditivo Negativo	93/102	91,2
Valor Preditivo Positivo	34/37	91,9

Taxa de Falsos-Negativos	9/102	8,8
Precisão	(34+93)/139	91,4

De forma a verificar a existência de factores preditivos, de uma maior probabilidade para a detecção de metástases no(s) gânglio(s) sentinela, foi verificada a associação das características histopatológicas dos tumores, o número de gânglios enviados para exame extemporâneo e o número de *imprints* e cortes de congelação com os resultados concordantes e discrepantes do exame extemporâneo.

Não foi verificada evidência estatística para afirmar que os parâmetros avaliados estejam associados com uma maior probabilidade de metastização ou incapacidade de detecção ( $p>0,05$  em todas) (Tabela 11).

**Tabela 11. Frequências absolutas e relativas dos parâmetros de associação com os resultados dos exames extemporâneos.**

Parâmetros	Concordantes (n=127) n (%)		Discrepantes (n=12) n (%)
<b>Nº Gânglios Extemporâneo</b>		$p=0,960$	
1	29 (22,8)		4 (33,3)
2	48 (37,8)		3 (25,0)
3	26 (20,5)		2 (16,7)
4	13 (10,2)		0
5	5 (3,9)		1 (8,3)
6	4 (3,1)		0
>7	2 (1,6)		2 (16,2)
<b>Nº Cortes de Congelação</b>		$p=0,888$	
0	34 (26,8)		4 (33,3)
1	32 (25,2)		3 (25,0)
2	42 (33,1)		2 (16,7)
3	12 (9,4)		2 (16,2)
>4	7 (5,5)		1 (8,3)
<b>Nº Imprints</b>		$p=0,796$	
0	1 (0,8)		0
1	3 (2,4)		0
2	31 (24,4)		2 (16,2)
3	16 (12,6)		3 (25,0)
4	41 (32,3)		5 (41,7)
5	1 (0,8)		1 (8,3)
6	15 (11,8)		0
7	3 (2,4)		1 (8,3)
>8	16 (12,6)		0
<b>Tipo Histológico</b>		$p=0,253$	
Carcinoma Ductal In-Situ	14 (11,0)		0
Carcinoma Ductal Invasor	96 (75,6)		10 (83,3)
Carcinoma Tubular Invasor	14 (11,0)		1 (8,3)
Carcinoma Misto	3 (2,4)		1 (8,3)
<b>Dimensões (cm)</b>		$p=0,611$	
<2	76 (59,8)		5 (41,7)
2-5	44 (34,6)		7 (58,3)
>5	7 (5,5)		0
<b>Grau</b>		$p=0,620$	

I	13 (10,2)	1 (8,3)
II	57 (44,9)	8 (66,7)
III	36 (28,3)	2 (16,7)

**Tabela 12. Frequências absolutas e relativas dos parâmetros de associação com os exames extemporâneos (continuação).**

Parâmetros	Concordantes (n=127) n (%)		Discrepantes (n=12) n (%)
<b>IPN<sup>1</sup></b>		<i>p</i> =1,000	
Bom prognóstico (<3,4)	14 (10,2)		0
Prognóstico Intermédio (3,4-5,4)	28 (44,9)		2 (16,7)
Mau prognóstico (>5,4)	9 (28,3)		0
<b>RE<sup>2</sup></b>		<i>p</i> =0,053	
Positivo	21 (16,5)		5 (41,7)
Negativo	103 (81,1)		7 (58,3)
<b>RP<sup>3</sup></b>		<i>p</i> =0,296	
Positivo	30 (16,5)		5 (41,7)
Negativo	94 (74,0)		7 (58,3)
<b>HER-2<sup>4</sup></b>		<i>p</i> =0,380	
Positivo	69 (54,3)		5 (41,7)
Negativo	55 (43,3)		7 (58,3)

<sup>1</sup> Índice de Prognóstico de Nottingham

<sup>2</sup> Receptor de Estrogénios

<sup>3</sup> Receptor de Progesterona

A caracterização dos casos falsos-positivos e falsos negativos, para alguns dos parâmetros, encontra-se na Tabela 13.

**Tabela 13. Caracterização dos casos falsos-positivos e falsos-negativos.**

	Nº gânglios	Metodologia <sup>3</sup>	Nº <i>imprints</i>	Nº cortes congelação	Tempo (min.)	Tipo Histológico
<b>FP<sup>1</sup></b>						
a	7	Imp + CC	7	3	26	Ductal invasor
b	1	Imp + CC	4	2	17	Lobular Invasor
c	2	Imp + CC	3	1	26	Misto
<b>FN<sup>2</sup></b>						
a	1	Imp + CC	2	1	23	Ductal invasor
b	5	Imp + CC	4	2	26	Ductal invasor
c	1	Imp + CC	3	4	25	Ductal invasor
d	1	Imp	2	0	26	Ductal invasor
e	3	Imp	4	0	16	Ductal invasor
f	7	Imp + CC	5	3	23	Ductal invasor
g	3	Imp	3	0	19	Ductal invasor
h	2	Imp + CC	4	1	34	Ductal invasor
i	2	Imp + CC	4	0	17	Ductal invasor

a -i – diferentes casos

<sup>1</sup>FP – Falso positivo

<sup>2</sup>FN – Falso negativo

<sup>3</sup>Imp – *Imprints*; CC - Cortes congelação

## **DISCUSSÃO**

---

A adopção de programas de rastreio, a implementação de campanhas de sensibilização, o aperfeiçoamento dos métodos de detecção precoce da doença, os avanços tecnológicos alcançados no estadiamento, diagnóstico e de novas formas de tratamento, não tem demonstrado a eficácia desejada, uma vez que o cancro da mama continua a ser a principal causa de morte relacionada com cancro nas mulheres (Ferlay, 2010; WHO, 2006b).

Assim o aumento do número de cancro da mama em estadios mais iniciais tem sido verificado. O tipo de cancro da mama mais frequente é o carcinoma ductal invasor (WHO, 2006b). Na nossa instituição, este tipo histológico apresentou uma frequência de 76,3%, apresentando uma distribuição equitativa desde o ano de 2009 até ao presente. Porém, o número de tumores diagnosticados mais precocemente apresentou uma melhoria no ano de 2010, com o aumento de 7,5% para 14,9%, tendo este valor voltado a diminuir em 2011. Esta variação pode ser justificada pela incorrecta selecção dos grupos etários alvo de rastreio, uma vez que este no rastreio em mulheres na faixa etária dos 40 anos parece não mostrar benefícios significativos quando em comparação com a faixa etária dos 50 anos (Pruthi, *et al.*, 2007). Como a maioria dos casos diagnosticados na nossa instituição foram do tipo invasor e com maior incidência no grupo etário dos 51 aos 60 anos, uma reavaliação geográfica da incidência do cancro da mama poderia levar à alteração da idade ideal para início do rastreio, aumentando sua detecção mais precoce.

As normas de orientação do tratamento cirúrgico do cancro da mama prevêm a adopção da abordagem conservadora da axila, com o objectivo de diminuir a morbilidade e alteração da qualidade de vida associada ao esvaziamento axilar quando clinicamente negativo para metastização (ASCO, 2005; SPN, 2008). Na nossa instituição, o número de mulheres que reúnem as condições para este tipo de abordagem foi de 139. Este número não mostra a percentagem de cirurgias mamárias que adoptaram esta abordagem, porém a dificuldade para aceder a esses números.

A avaliação do estado axilar é uma dos principais factores prognósticos desta doença, pelo que a análise intraoperatória do gânglio sentinela assume a maior responsabilidade. Apesar de 89,9% do número de gânglios sentinela enviados para análise extemporâneo se

situar entre 1 e 4 gânglios, 10,1% correspondem ainda a mais de 5 gânglios. Houve um caso cujo número foi de 11 gânglios. O receio dos cirurgiões, pelo facto de 25% das metástases não se situarem nos gânglios sentinela mais marcados, não pode levar a um exagero do número de gânglios colhidos para análise, uma vez que o efeito preventivo da morbilidade visado pela avaliação intraoperatória se perde (Dixon, 2006).

Os métodos de avaliação anatomopatológica extemporânea dos gânglios sentinela mais comumente adoptados são os imprints citológicos e/ou cortes de congelação corados por H&E (Layfield, *et al.*, 2011; Memar, *et al.*, 2010). Na nossa instituição são utilizados os dois e as metodologias mais empregues utilizaram a combinação imprints e cortes de congelação, para superar as dificuldades de interpretação microscópica associadas a cada, ou apenas de imprints.

O tempo despendido nos exames extemporâneos, revelou-se superior aquando da combinação de cortes de congelação e imprints ou apenas cortes de congelação (apenas um caso). A realização de apenas imprints é mais rápido, pelo que a espera intraoperatória do doente é inferior. Segundo os objectivos da qualidade da nossa instituição, o máximo admitido para a realização dos exames extemporâneos é de uma máxima de 30 minutos, pelo que a média de todos os métodos cumprem este requisito, como verificado no Gráfico 6, no qual o tempo médio total foi de 20,3 minutos, com cortes de congelação cerca de 21 minutos e imprints de apenas 18,3 minutos.

Segundo a literatura, estudos recentes apresentam uma precisão que varia entre 93,0 e 97,1% e uma taxa de falsos negativos que varia entre 5,5 e 22,9% na avaliação extemporânea do gânglio sentinela (Wang, *et al.*, 2011). A sensibilidade na detecção de metástases por cortes de congelação varia entre 57% e 74% e por imprints entre 33% e 73%, cuja diferença, quando comparadas, não é estatisticamente significativa (Layfield, *et al.*, 2011; Memar, *et al.*, 2010).

A avaliação dos resultados dos exames extemporâneos foi considerada sem evidenciar a metodologia utilizada, uma vez que para avaliar separadamente, os cortes de congelação e os imprints, seria necessária a reavaliação das lâminas dos exames extemporâneos, de forma a atribuir ao respectivo método o diagnóstico proferido. Sendo

assim, esta análise, por não ter em consideração a metodologia, o enviesamento dos resultados analíticos pode ser considerado.

A precisão obtida para o nosso método foi de 91,4% e apresentou uma sensibilidade de 79,1% e especificidade de 96,9%. Independentemente da metodologia utilizada, estes resultados mostram-se que o nosso método de pesquisa extemporânea de metástases no gânglio apresenta uma sensibilidade elevada e precisão aceitável, quando em comparação com a literatura.

Segundo Cserni, *et al.*, a sensibilidade relaciona-se com o número de níveis dos cortes de congelação avaliados. Shiller, *et al.*, mostrou que a avaliação de um ou dois níveis oculta cerca de 29% de metástases. E Chan, *et al.*, que uma recente meta-análise reportou um sensibilidade menor dos imprints, em relação aos cortes de congelação, na detecção das metástases, no valor de 62% *versus* 76% e que uma amostragem mais extensa aumenta a probabilidade de detecção de micrometástases, com uma redução dos falsos positivos em 5,5%. Em ambos os métodos, os resultados falso-negativo são mais frequentes no caso de presença de micrometástases, um pela perda de material, outro pelo reduzido número de células analisadas (Layfield, *et al.*, 2011; Memar, *et al.*, 2010).

No nosso estudo, nos casos de falsos-negativos encontrados, foram: 5 correspondentes à detecção de micrometástases na avaliação em cortes dos fragmentos embebidos em parafina; e 4 corresponderam a negatividade do gânglio analisado em exame extemporâneo, mas restantes metastizados. Em ambas as situações a utilização de imprints ou cortes de congelação foi indiferenciada. A discordância dos resultados pode ser justificada por factores acima referidos na literatura, uma vez que os cortes de congelação do gânglios no exame extemporâneo são realizados em, apenas e no máximo, dois níveis. Ou erro de amostragem ou reduzido número de células avaliadas podem ainda ser outra razão. Nos 4 casos de negatividade do gânglio sentinela, o mapeamento intraoperatório incorrecto pode ainda ser considerado.

Os 3 casos falsos-positivos foram avaliados por imprints e citologia. Podem ser justificados pela dificuldade do diagnóstico quer em cortes de congelação, quer em imprints, como defendido por Hamidian, *et al.*

A análise da associação das características tumorais e os resultados do exame extemporâneo não revelou nenhum factor que se correlacionasse com uma maior probabilidade de metastização. Assim, num caso de dúvida, a indicação para esvaziamento ou não ganglionar com base noutros parâmetros para além da análise microscópica não é possível.

A utilidade da abordagem molecular para avaliar a presença de metástases de cancro da mama no gânglio sentinela, através de qRT-PCR ou OSNA tem sido largamente explorada (Baker, 2003; Tsujimoto *et al.*, 2007; Veys *et al.*, 2009; Visser *et al.*, 2008). A técnica de qRT-PCR apresenta uma sensibilidade de detecção de metástases de 90%, porém a utilização de mRNA, devido à amplificação concomitante de pseudogenes do DNA genómico, pode resultar em falsos-positivos TSU. Para técnica de OSNA foi demonstrada uma especificidade de 94,7% e sensibilidade de 95,3% (Visser, *et al.*, 2008).. Em comparação com os nossos resultados estas técnicas apresentam melhores resultados que o método de imprints e cortes de congelação.

## **CONCLUSÃO**

---

Os métodos, *imprints* e cortes de congelação, actualmente utilizados na nossa instituição apresentam bons resultados, mas a adopção de apenas um ou outro necessita de uma análise mais aprofundada dos dados relativos à metodologia utilizada nos extemporâneos, de forma a verificar a especificidade e sensibilidade individualizadas dos *imprints* e dos cortes de congelação. Se os *imprints* se revelarem semelhantes aos cortes de congelação, a sua utilização é preferencial uma vez que acarreta menores custos e são menos morosos.

A implementação de novas técnicas será uma metodologia adoptar, pelos benefícios acrescidos, porém mais estudos e a optimização destas técnicas são necessários de forma a superar as suas limitações.

## **BIBLIOGRAFIA**

---

. (!!! INVALID CITATION !!!).

- Abdul-Rasool, S. (2006). An evaluation of molecular markers for improved detection of breast cancer metastases in sentinel nodes. *Journal of Clinical Pathology*, 59(3), 289-297.
- Aebi, S., Davidson, T., Gruber, G., & Castiglione, M. (2010). Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 21(5), 9-14.
- American Cancer Society. (2010). Detailed Guide: Breast Cancer. Accessed at <http://www.cancer.org/Cancer/BreastCancer/DetailedGuide/index> on September 24, 2010.
- American Joint Committee on Cancer. (2009). AJCC Cancer Staging Manual, 7th edition, updated Cancer Staging Posters. *American Cancer Society*.
- American Society of Clinical Oncology. (2005). ASCO Guideline Recommendations for Sentinel Lymph Node Biopsy in Early-Stage Breast Cancer: Guideline Summary. *Journal of Oncology Practice*, 134-136.
- Backus, J., Laughlin, T., Wang, Y., Belly, R., White, R., Baden, J., et al. (2005). Identification and Characterization of Optimal Gene Expression Markers for Detection of Breast Cancer Metastasis. *The Journal of molecular diagnostics : JMD*, 7(3), 327-336.
- Baker, M. (2003). The molecular detection of micrometastatic breast cancer. *The American Journal of Surgery*, 186(4), 351-358.
- Bastos, J., Barros, H., & Lunet, N. (2007). Evolução da Mortalidade por Cancro da Mama em Portugal (1955-2002). *Acta Medica Portuguesa* 2007, 20, 139-144.
- Benson, J. R., & Wishart, G. C. (2010). Is intra-operative nodal assessment essential in a modern breast practice? *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*, 36(12), 1162-1164.
- Chan, Y. H. Y., Hung, W.-K., Mak, K.-L., Ying, M. W. L., Chan, M. C. M., & Lui, C.-Y. (2011). Intra-operative Assessment of Axillary Sentinel Lymph Nodes by Frozen Section - An Observational Study of 260 Procedures. *Asian Journal of Surgery*, 34(2), 81-85.
- Choi, Y. J. (2006). Intraoperative Examination of Sentinel Lymph Nodes by Ultrarapid Immunohistochemistry in Breast Cancer. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 36(8), 489-493.
- Coleman, M., Quaresma, M., Berrino, F., Lutz, J.-M., Angelis, R. D., Capocaccia, R., et al. (2008). Cancer survival in fi ve continents: a worldwide population-based study (CONCORD). *The Lancet Oncology*, 9, 730-756.
- Cotran, R. S., Kumar, V., & Collins, T. (2000). *Robbins Patologia Estrutural e Funcional* (Sexta ed.): Guanabara Koogan.
- Cserni, G. (2000). Axillary staging of breast cancer and the sentinel node. *Journal of Clinical Pathology*, 53, 733-741.
- Cserni, G., Burzykowski, T., Vinh-Hung, V., Kocsis, L., Boross, G., Sinkó, M., et al. (2004). Axillary Sentinel Node and Tumour-related Factors Associated with Non-sentinel Node Involvement in Breast Cancer. *Japanese Journal Clinical of Oncology*, 34(9), 519-524.

- Cunnick, G. H., Jiang, W. G., Douglas-Jones, T., Watkins, G., Gomez, K. F., Morgan, M. J., *et al.* (2008). Lymphangiogenesis and lymph node metastasis in breast cancer. *Molecular Cancer*, 7(1), 23.
- Dell'Orto, P., Olivia Biasi, M., Curto, B., Zurrada, S., Galimberti, V., & Viale, G. (2006). Assessing the status of axillary sentinel lymph nodes of breast carcinoma patients by a real-time quantitative RT-PCR assay for mammaglobin 1 mRNA. *Breast Cancer Research and Treatment*, 98(2), 185-190.
- Dixon, J. M. (2006). *ABC of Breast Disease* (Third ed.): Blackwell Publishing Ltd.
- Edge, S. B., Byrd, D. R., Compton, C. C., Fritz, A. G., Greene, F. L., & Trotti, A. (2010). AJCC Cancer Staging Handbook, 7th edition. *From the AJCC Cancer Staging Manual*.
- Ferlay, J., Shin, H.R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., Parkin, D.M. (2010). GLOBOCAN 2008 v1.2, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer;. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on 01/07/2011.
- Fotou, M., Oikonomou, V., Zagouri, F., Sergentanis, T. N., Nonni, A., Athanassiadou, P., *et al.* (2007). Imprint cytology on microcalcifications excised by Vacuum-Assisted Breast Biopsy: A rapid preliminary diagnosis. *World Journal of Surgical Oncology*, 5(1), 40-46.
- Francz, M., Egervari, K., & Szollosi, Z. (2011). Intraoperative evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer: comparison of frozen sections, imprint cytology and immunocytochemistry. *Cytopathology*, 22, 36-42.
- Hamidian, A. J., Narayanan, S., MacNeill, F., Osin, P., Nerurkar, A., & Gui, G. (2009). Testing the feasibility of intra-operative sentinel lymph node touch imprint cytology. *Annals of The Royal College of Surgeons of England*, 91(4), 336-339.
- Horsnell, J., Stonelake, P., Christie-Brown, J., Shetty, G., Hutchings, J., Kendall, C., *et al.* (2010). Raman spectroscopy—A new method for the intra-operative assessment of axillary lymph nodes. *The Analyst*, 135(12), 3042.
- Huber, R., Kunisch, E., Gluck, B., Egerer, R., Sickinger, S., & Kinne, R. W. (2003). Comparison of conventional and real-time RT-PCR for the quantitation of jun protooncogene mRNA and analysis of jun B mRNA expression in synovial membranes and isolated synovial fibroblasts from rheumatoid arthritis patients. *Zeitschrift für Rheumatologie*, 62(4), 378-389.
- Huo, L. (2011). A practical approach to grossing breast specimens. *Annals of Diagnostic Pathology*, 15(4), 291-301.
- International Agency for Research on Cancer. (2008). IARC: World Cancer Report 2008.
- Jensen, A. J., Naik, A. M., Pommier, R. F., Vetto, J. T., & Troxell, M. L. (2010). Factors influencing accuracy of axillary sentinel lymph node frozen section for breast cancer. *The American Journal of Surgery*, 199(5), 629-635.
- Kurosumi, M., & Takei, H. (2007). Significance and Problems of Histopathological Examination and Utility of Real-Time Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction Method for the Detection of Sentinel Lymph Node Metastasis in Breast Cancer. *Breast Cancer*, 14(4), 342-349.

- Layfield, D. M., Agrawal, A., Roche, H., & Cutress, R. I. (2011). Intraoperative assessment of sentinel lymph nodes in breast cancer. *British Journal of Surgery*, 98(1), 4-17.
- Lorand, S., Lavoué, V., Tas, P., Foucher, F., Mesbah, H., Rouquette, S., *et al.* (2011). Intraoperative touch imprint cytology of axillary sentinel nodes for breast cancer: A series of 355 procedures. *The Breast*, 20(2), 119-123.
- Memar, B., Sadeghi, R., Khatoun, N., Aledavood, S. A., Tghizadeh, A., Naseri, S., *et al.* (2010). The Value of Touch Imprint Cytology and Frozen Section for Intraoperative Evaluation of Axillary Sentinel Lymph Nodes. *Polac Journal of Pathology*, 3, 161-165.
- Mori, M., Tada, K., Ikenaga, M., Miyagi, Y., Nishimura, S., Takahashi, K., *et al.* (2006). Frozen section is superior to imprint cytology for the intra-operative assessment of sentinel lymph node metastasis in Stage I Breast cancer patients. *World Journal of Surgical Oncology*, 4, 26-29.
- Pruthi, S., Brandt, K. R., Degnim, A. C., Goetz, M. P., Perez, E. A., Reynolds, C. A., *et al.* (2007). A Multidisciplinary Approach of the Management of Breast Cancer, Part 1: Prevention and Diagnosis. *Mayo Clinic Proceedings*, 82(8), 999-1012.
- Rosai, J., & Ackerman, L. V. (2004). *Surgical Pathology* (Ninth ed. Vol. 2): Mosby.
- Shiller, S. M., Weir, R., Pippin, J., Punar, M., & Savino, D. (2011). The sensitivity and specificity of sentinel lymph node biopsy for breast cancer at Baylor University Medical Center at Dallas: a retrospective review of 488 cases. *Proceedings (Baylor University. Medical Center)*, 24(2), 81-85.
- Sobin, L., Gospodarowicz, M., & Wittekind, C. (2009). *TNM Classification of Malignant Tumours* (Seventh ed.): UICC International Union Against Cancer.
- Sociedade Portuguesa de Senologia. (2008). VI Reuniao de Consenso Nacional do Cancro da Mama.
- Todd, J. H., Dowle, C., Williams, M. R., Elston, C. W., Ellis, I. O., Hinton, C. P., *et al.* (1987). Confirmation of a prognostic index in primary breast cancer. *Breast Journal of Cancer*, 56, 489-492.
- Tsujimoto, M., Nakabayashi, K., Yoshidome, K., Kaneko, T., Iwase, T., Akiyama, F., *et al.* (2007). One-step Nucleic Acid Amplification for Intraoperative Detection of Lymph Node Metastasis in Breast Cancer Patients. *Clinical Cancer Research*, 13(16), 4807-4816.
- Veys, I., Majjaj, S., Salgado, R., Noterman, D., Schobbens, J. C., Manouach, F., *et al.* (2009). Evaluation of the histological size of the sentinel lymph node metastases using RT-PCR assay: a rapid tool to estimate the risk of non-sentinel lymph node invasion in patients with breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 124(3), 599-605.
- Visser, M., Jiwa, M., Horstman, A., Brink, A. A. T. P., Pol, R. P., van Diest, P., *et al.* (2008). Intra-operative rapid diagnostic method based on CK19 mRNA expression for the detection of lymph node metastases in breast cancer. *International Journal of Cancer*, 122(11), 2562-2567.
- Wang, Z., Wu, L.-C., & Chen, J.-Q. (2011). Sentinel lymph node biopsy compared with axillary lymph node dissection in early breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Research and Treatment*.

World Health Organization. (2006a). Guidelines for management of breast cancer. *EMRO Technical Publications Series, 31*.

World Health Organization. (2006b). Guideline for early detection and screening of breast cancer. *EMRO Technical Publications Series, 30*.

World Health Organization. (2008). *The Global Burden of Disease: 2004 update*.