Rodrigo Augusto Depieri Michelli

Estudo caso-controle dos marcadores clínico-patológicos e imuno-histoquímicos no câncer de mama masculino em relação ao feminino e seu impacto com a sobrevida

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Oncologia
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Renzo Brentani

São Paulo
2010

Rodrigo Augusto Depieri Michelli

Estudo caso-controle dos marcadores clínico-patológicos e imuno-histoquímicos no câncer de mama masculino em relação ao feminino e seu impacto com a sobrevida

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Oncologia
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Renzo Brentani

São Paulo
2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Michelli, Rodrigo Augusto Depieri
Estudo caso-controle dos marcadores clínico-patológicos e imuno-histoquímicos no câncer de mama masculino em relação ao feminino e seu impacto com a sobrevida / Rodrigo Augusto Depieri Michelli. -- São Paulo, 2010.
Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Oncologia.
Orientador: Ricardo Renzo Brentani.

Descritores: 1.Neoplasia da mama masculina 2.Estudos de casos e controles 3.Imunoistoquímica 4.Biologia Molecular 5.Prognóstico

USP/FM/DBD-495/10

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho

À minha esposa, Lívia, companheira em todos os momentos, a minha maior incentivadora, que muito contribuiu para a concretização deste trabalho.

Ao meu filho, Augusto, que nasceu durante a realização deste projeto, dando um novo sentido à minha vida.

Aos meus pais, Mário e Sílvia, que me proporcionaram educação e estudos adequados para que eu pudesse realizar este projeto.

Aos meus sogros, Dr. Régis e D. Eliana, que me incentivaram, torcendo sempre pelo meu sucesso.

A toda minha família, por compreenderem meus dias ausentes do seu convívio, pelo tempo dedicado à elaboração deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS acima de tudo, por me guiar em todos os caminhos e por me fortalecer nos momentos mais difíceis.

Agradeço a todos que de alguma forma ajudaram na realização deste trabalho, em especial:

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Renzo Brentani, pela paciência e confiança em mim depositada.

À Profa. Dra. Maria Mitzi Brentani, pela gentileza e atenção.

À Dra. Scylla Duarte Prata, pelo carinho com que sempre me tratou, pelo exemplo, e pela confiança que em mim depositou.

À Diretoria do Hospital de Câncer de Barretos, em especial ao Sr. Henrique Duarte Prata, por oferecer suporte adequado para a realização de pesquisas nesta Instituição.

Ao Prof. Dr. Edmundo Carvalho Mauad, que muito me incentivou para a realização desta pesquisa, obrigado pela confiança.

Ao Dr. Raphael Luiz Haikel, que com seu paternalismo compreende, apóia e incentiva o crescimento individual e coletivo da nossa equipe.

Aos meus colegas do Departamento de Mastologia e Reconstrução Mamária do Hospital de Câncer de Barretos, Dr. Gustavo H. Fabri P. Ribeiro, Dr. A. Gustavo Zucca Matthes, Dr. Antônio Bailão Junior e Dr. René A. da Costa Vieira, pela disposição em ajudar nos momentos que precisei me ausentar do trabalho para a realização desta pesquisa.

Ao colega Dr. José Humberto Tavares G. Fregnani pelas inúmeras análises estatísticas realizadas, pelos vários e-mails e telefonemas trocados para acertos e ajustes, e pelo seu tempo gasto nestas ocasiões.

Aos colegas Dra. Ligia Maria Kerr e Dr. Cristovam Scapulatempo Neto por terem dedicado um tempo precioso na separação dos blocos e das lâminas de todos os casos que foram incluídos neste estudo.

Ao Prof. Dr. Fernando Augusto Soares que gentilmente permitiu que eu realizasse grande parte deste estudo no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital A C Camargo.

Ao colega Dr. Antonio Hugo J. F. M. Campos pelas leituras das inúmeras lâminas do TMA, pelas fotos dos resultados, pela sua atenção e disponibilidade em ajudar.

À colega Dra. Sabrina H. Kato, residente do Departamento de Anatomia Patológica do Hospital A C Camargo, pela sua contribuição neste trabalho.

Aos membros da banca de qualificação Prof. Dr. Igor Moyses Longo Snitcovsky, Profa. Dra. Maria Dirlei Ferreira de Souza Begnami e Prof. Dr. René Aloisio da Costa Vieira, pelas sugestões e considerações, que muito contribuíram para o aperfeiçoamento desta dissertação.

Aos funcionários do Departamento de Anatomia Patológica do Hospital de Câncer de Barretos, e do Hospital A C Camargo, em especial ao Sr. Carlos Ferreira Nascimento, na construção “artística” do TMA, à Sra. Sueli Nonogaki nas reações imuno-histoquímicas, e ao Sr. José Ivanildo Neves na realização do FISH.

A todos os funcionários do Núcleo de Apoio ao Pesquisador (NAP) do Hospital de Câncer de Barretos.

Aos funcionários do SAME do Hospital de Câncer de Barretos, pela separação dos prontuários que foram revisados.

Aos pacientes o meu respeito e muito obrigado por terem anonimamente contribuído para que fossem acrescentados dados à literatura médica científica.

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de tabelas

Lista de figuras

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO 1

2. OBJETIVOS 14

3. MÉTODOS 16

3.1. Blocos de parafina 19

3.2. Análise de marcadores pela técnica de imuno-histoquímica 20

3.3. Hibridização *in situ* de fluorescência (FISH) 30

3.4. Análise estatística 32

4. RESULTADOS 34

4.1. Descrição da amostra 35

4.2. Análises de associações 38

4.3. Análises de sobrevida 50

4.3.1. Seguimento 50

4.3.2. Análises de sobrevida global do grupo todo 51

4.3.3. Análises de sobrevida global de acordo com o gênero 58

4.3.4. Análises de sobrevida global estratificadas por gênero 68

4.3.5. Análises de sobrevida livre de doença do grupo todo 73

4.3.6. Análises de sobrevida livre de doença de acordo com o gênero.....77

4.4. Análise multivariada (Cox) 85

5. DISCUSSÃO 87

6. CONCLUSÕES 111

7. ANEXOS 113

8. REFERÊNCIAS 117

APÊNDICES 123

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASCO	American Society of Clinical Oncology
BRCA	*Breast Cancer Associated Gene*
CK	citoqueratina
DNA	ácido desoxirribonucleico
EC	estádio clínico
et al.	e outros
FISH	hibridização *in situ* de fluorescência
HE	hematoxilina-eosina
HER2	receptor de fator de crescimento epidérmico humano 2
HR	*hazard ratio*
IC 95%	intervalo de confiança de 95%
IHQ	imuno-histoquímica
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LN	linfonodo
RA	receptor de andrógeno
RE	receptor de estrógeno
RH	receptor hormonal
RP	receptor de progesterona
SEER	Sobrevida, Epidemiologia e Resultados
SG	sobrevida global
SLD	sobrevida livre de doença
TMA	*tissue microarray*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos caso-controle do câncer de mama masculino em relação ao feminino 12

Tabela 2 – Perfil dos marcadores para técnica imuno-histoquímica 23

Tabela 3 – Variáveis relacionadas ao pareamento e seleção dos pacientes. 35

Tabela 4 – Variáveis contínuas de acordo com o gênero 39

Tabela 5 – Variáveis relacionadas à apresentação dos pacientes ao diagnóstico 40

Tabela 6 – Variáveis relacionadas ao estadiamento clínico (TNM / 2002) 41

Tabela 7 – Correlação entre estado linfonodal e EC-T de acordo com o gênero. 42

Tabela 8 – Variáveis relacionadas ao tratamento realizado 43

Tabela 9 – Variáveis anatomopatológicas 44

Tabela 10 – Expressão de marcadores pela técnica imuno-histoquímica 46

Tabela 11 – Variáveis relacionadas à caracterização dos subtipos moleculares avaliados pela técnica imuno-histoquímica 47

Tabela 12 – Comparação entre os marcadores expressos pela técnica imuno-histoquímica no subtipo luminal A de acordo com o gênero 48

Tabela 13 – Comparação entre os marcadores expressos pela técnica imuno-histoquímica no subtipo luminal B de acordo com o gênero 49

Tabela 14 – Correlação entre os receptores de andrógeno com os subtipos moleculares avaliados pela técnica imuno-histoquímica, de acordo com o gênero 50

Tabela 15 – Seguimento 51
Tabela 16 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com o estadiamento clínico (TNM / 2002) e de acordo com o gênero 53
Tabela 17 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com o tipo de tratamento realizado 54
Tabela 18 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com as variáveis anatomopatológicas 55
Tabela 19 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com a expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica 56
Tabela 20 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com os subtipos moleculares caracterizados pela técnica imuno-histoquímica 57
Tabela 21 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com o estadiamento clínico (TNM / 2002) e gênero 58
Tabela 22 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com o tipo de tratamento realizado e gênero 61
Tabela 23 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com as variáveis anatomopatológicas e gênero 62
Tabela 24 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com a expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica e gênero 64
Tabela 25 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com os subtipos moleculares específicos caracterizados pela técnica imuno-histoquímica e gênero 65
Tabela 26 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com os subtipos moleculares caracterizados pela técnica imuno-histoquímica e gênero 66

Tabela 27 – Sobrevida global aos 60 meses estratificada de acordo com o estadiamento clínico (TNM / 2002) e gênero **68**

Tabela 28 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com as variáveis clínicas..... **73**

Tabela 29 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com o tipo de tratamento realizado..... **74**

Tabela 30 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com as variáveis anatomopatológicas **75**

Tabela 31 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com a expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica **76**

Tabela 32 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com os subtipos moleculares caracterizados pela técnica imuno-histoquímica **77**

Tabela 33 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com o estadiamento clínico (TNM / 2002) e gênero **78**

Tabela 34 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com o tipo de tratamento realizado e gênero..... **81**

Tabela 35 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com as variáveis anatomopatológicas e gênero **82**

Tabela 36 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com a expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica e gênero **84**

Tabela 37 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com os subtipos moleculares caracterizados pela técnica imuno-histoquímica e gênero **85**

Tabela 38 – Modelo multivariado proposto para avaliar o gênero como possível fator prognóstico. **86**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – (A) Bloco de parafina do TMA, em triplicata (B) Lâmina do bloco de parafina (HE) (C) Lâmina de um caso, aumento de 100X (HE) **20**

Figura 2 – Padrões de expressão dos marcadores pela técnica IHQ (RE, RP, RA). Aumento de 400X. **25**

Figura 3 – Padrões de expressão dos marcadores pela técnica IHQ (Bcl-2, ciclina D1, p53). Aumento de 400X. **26**

Figura 4 – Padrões de expressão dos marcadores pela técnica IHQ (CK 5, CK 6, CK8). Aumento de 400X **27**

Figura 5 – Padrões de expressão dos marcadores pela técnica IHQ (CK 14, CK 17, CK 18). Aumento de 400X **28**

Figura 6 – Padrões de expressão dos marcadores pela técnica IHQ (KI-67, HER2). Aumento de 400X **29**

Figura 7 – Padrão de avaliação do HER2 pela técnica imuno-histoquímica. (0) Sem marcação da membrana. (1+) Marcação parcial da membrana. (2+) Marcação completa da membrana, fraca ou moderada em mais de 10% das células tumorais. (3+) Marcação completa e intensa da membrana em mais de 10% das células tumorais.. ..... **30**

Figura 8 – Padrão de expressão do HER2 pela hibridização *in situ* de fluorescência (FISH). **32**

Figura 9 – Sobrevida global **52**

Figura 10 – Sobrevida global de acordo com os subtipos moleculares **57**

Figura 11 – Sobrevida global de acordo com o estádio clínico e gênero. (A) Masculino (B) Feminino. **59**

Figura 12 – Sobrevida global de acordo com os subtipos moleculares e gênero. (A) Masculino (B) Feminino. **67**

Figura 13– Sobrevida global estratificada de acordo com o estádio clínico e gênero. (A) Estádio clínico 2 (B) Estádio clínico 3 (C) Estádio clínico 4. ..... **69**

Figura 14 – Sobrevida global de acordo com o estado linfonodal e gênero. (A) Linfonodo negativo – N0 (B) Linfonodo positivo – N1. ..... **70**

Figura 15 – Sobrevida global estratificada de acordo com o receptor de andrógeno e gênero **71**

Figura 16 – Sobrevida global estratificada de acordo com o subtipo molecular e gênero. (A) Luminal A (B) Luminal B **72**

Figura 17 – Sobrevida livre de doença de acordo com o estádio clínico e gênero. (A) Masculino (B) Feminino. **79**

Figura 18 – Sobrevida livre de doença de acordo com o estado linfonodal e gênero. (A) Masculino (B) Feminino. **80**

RESUMO

Michelli RAD. **Estudo caso-controle dos marcadores clínico-patológicos e imuno-histoquímicos no câncer de mama masculino em relação ao feminino e seu impacto com a sobrevida** [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2010.

INTRODUÇÃO: O câncer de mama masculino é uma doença rara, apresentando uma baixa frequência, representando cerca de 0,2% de todos os cânceres, 1% dos cânceres de mama e 1,5% de todos os tumores malignos em homens. A etiologia e o prognóstico do câncer de mama masculino são pouco conhecidos. Estudos pareados de grupo controle foram realizados para melhor responder a estes questionamentos, porém o número limitado de casos de câncer de mama nos homens nos diversos serviços dificulta maiores estudos. O uso dos marcadores moleculares e técnicas imuno-histoquímicas têm sido muito úteis na compreensão do desenvolvimento e progressão desta patologia, e a relação destes marcadores moleculares com a sobrevida global e sobrevida livre de doença, bem como a sua relação entre o câncer de mama nos homens e nas mulheres não estão bem estabelecidos. O objetivo foi analisar as características clínicas, patológicas e imuno-histoquímicas do câncer de mama no sexo masculino observadas em uma coorte histórica, em comparação com aquelas observadas no sexo feminino, relacionando com a sobrevida global e sobrevida livre de doença destes grupos de pacientes. MÉTODOS: Estudo caso-controle retrospectivo de pacientes portadores de câncer de mama masculino, atendidos no período de 1983 a 2008, no Hospital de Câncer de Barretos e no Hospital A.C. Camargo. No grupo controle foram incluídas mulheres com câncer de mama, pareadas por década de diagnóstico, estádio clínico e faixa etária. Foram incluídos 44 pacientes do sexo masculino e 136 do sexo feminino e foram analisadas as variáveis clínicas (sexo, idade, história familiar de câncer, comorbidades associadas, tamanho do tumor, estado linfonodal da axila, estádio clínico/TNM e modalidades de tratamento realizado), patológicas (tipo e grau histológico, embolização linfática, embolização sanguínea, invasão perineural) e as expressas pela imuno-histoquímica (receptor de estrógeno, receptor de progesterona, receptor de andrógeno, bcl-2, Ki-67, ciclina D1, citoqueratinas 5, 6, 8, 14, 17,18 e HER2, confirmada por FISH). No presente estudo, a caracterização dos subtipos moleculares pelo método imuno-histoquímico foi baseada no modelo proposto por Carey et al. (2006), resultando nos grupos Luminal A, Luminal B, HER2 superexpresso, *basal-like* e não classificável. Avaliou-se a sobrevida global e livre de doença. RESULTADOS: O câncer de mama no homem apresentou-se mais frequentemente com histologia não lobular, receptores hormonais positivos e HER2 negativos, e maior expressão de bcl-2 e ciclina D1. O estádio clínico e o estado linfonodal tiveram influência na sobrevida, sendo de pior prognóstico os pacientes em estádios clínicos mais avançados e com linfonodos axilares positivos. O receptor de andrógeno positivo foi mais frequente nos homens, nos fenótipos luminais e não teve correlação com a sobrevida. Não houve diferença entre os fenótipos moleculares caracterizados pela imuno-histoquímica e o fenótipo *basal-like* teve pior prognóstico nos sexos masculino e feminino. Porém, o sexo não foi considerado fator prognóstico independente e não houve diferença na sobrevida entre os homens e mulheres. CONCLUSÕES: Apesar de apresentarem características clínicas, histológicas e expressão de marcadores pela imuno-histoquímica diferentes, a sobrevida foi semelhante nos sexos masculino e feminino, não sendo o sexo um fator prognóstico independente no câncer de mama.

Descritores: Neoplasia da mama masculina. Estudos de casos e controles. Imunoistoquímica. Biologia molecular. Prognóstico.

SUMMARY

Michelli RAD. **Case-control study of the clinical-pathological and immunohistochemical markers in the male breast cancer in relation to the female and your impact with the survival** [Dissertation]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2010.

INTRODUCTION: The male breast cancer is a rare disease, presenting a low frequency, representing about 0,2% of all the cancers, 1% of breast cancers and 1,5% of all the evil tumors in men. The etiology and the prognostic of the male breast cancer are little known. Group control studies they were accomplished for best to answer to these questions, however the limited number of cases of breast cancer in the men in the several services it hinders larger studies. The use of the molecular markers and immunohistochemistry have been very useful in the understanding of the development and progression of this pathology, and the relationship of these molecular markers with the overall survival and disease free survival, as well as your relationship among breast cancer in the men and in the women they are not very established. The objective was to analyze the clinical, pathological and immunohistochemical characteristics of breast cancer in the masculine sex observed in a historical cohort, in comparison with observed them in the feminine sex, relating with the overall survival and disease free survival of these groups of patients. METHODS: a retrospective case-control study of patient bearers of male breast cancer was accomplished, assisted in the period from 1983 to 2008, in the Hospital of Cancer of Barretos and in the Hospital A.C. Camargo. In the group control women were included with breast cancer, selected for decade of diagnosis, clinical stadium and age group. Forty four patients of the masculine sex were included and 136 of the feminine sex, and the clinical variables were analyzed (sex, age, family history of cancer, associated comorbidities, size of the tumor, nodal status, clinical stadium/TNM and treatment modalities accomplished), pathological (type and grade histological) and the expressed ones for the immunohistochemical (estrogen, progesterone and androgen's receptors, bcl-2, Ki-67, ciclina D1,cytokeratins 5, 6, 8, 14, 17,18 and HER2, confirmed by FISH). In the present study, the immunohistochemical characterization of molecular subtypes was based on the model proposed by Carey et al. (2006), resulting in the groups Luminal A, Luminal B, HER2, basal-like and not classifiable. The overall survival and disease free survival was evaluated. RESULTS: Breast cancer in the man more frequently came with histology non lobular, positive hormonal receptor, negative HER2, and larger bcl2 and ciclina D1 expression. The clinical stadium and the state nodal had influence in the survival, being of worse prognostic the patients in stadiums more advanced and with positive axillary node. The positive androgen receptor was more frequent in the men, in the phenotype luminal and it didn't have correlation with the survival. There was not difference among the molecular phenotypes characterized by the immunohistochemistry and the phenotype basal-like had worse prognostic in the masculine and feminine sexes. However the sex was not considered factor independent prognostic and there was not difference in the survival between the men and women. CONCLUSION: In spite of they present different clinical, histological and immunohistochemical characteristics, the survival was similar in the masculine and feminine sexes, not being the sex a factor independent prognostic in breast cancer.

Descriptors: Breast neoplasm, male. Case-controls studies. Immunohistochemistry. Molecular biology. Prognostic.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O câncer de mama masculino é uma doença rara, apresentando uma baixa frequência, representando cerca de 0,2% de todos os cânceres, 1% dos cânceres de mama e 1,5% de todos os tumores malignos em homens, sendo responsável por 0,1% das mortes por câncer no sexo masculino. A incidência do câncer de mama nos homens tem diminuído nos últimos anos, similarmente ao que vem ocorrendo nas mulheres com a mesma patologia (Jemal et al., 2009). No Brasil, as estimativas para o ano de 2010, válidas também para o ano de 2011, apontam 49.240 casos de câncer de mama no sexo feminino e cerca de 490 casos no sexo masculino (INCA, 2010).

Várias características são similares entre os cânceres de mama nas mulheres e nos homens, dentre elas as relacionadas com a história natural da doença e suas características demográficas. Porém, as características dos tumores e o ambiente hormonal feminino e masculino são muito diferentes (Hill et al., 2005).

Pela raridade desta patologia, a etiologia do câncer de mama masculino é pouco conhecida. Alguns fatores de risco identificados refletem a importância dos fatores hormonais e sugerem que anormalidades no balanço estrogênico e androgênico, incluindo Síndrome de Klinefelter, obesidade, ginecomastia,

orquite e epididimite podem estar relacionadas com o aumento do risco de desenvolvimento de câncer de mama nos homens (Brinton et al., 2010).

Aproximadamente, 15 a 20% dos pacientes masculinos com câncer de mama têm uma história familiar positiva, sendo um importante fator predisponente. Em mulheres, a susceptibilidade genética para o câncer de mama está relacionada com mutações nos genes BRCA1 e BRCA2. Em homens o gene BRCA1 parece não estar relacionado com significativo aumento no risco de desenvolvimento do câncer de mama, mas homens com mutações no gene BRCA2 são predispostos ao câncer de mama (Giordano et al., 2002). No Brasil faltam estudos para avaliar a prevalência das mutações nos genes BRCA 1 e 2 nos homens com câncer de mama; no entanto, um estudo analisou a prevalência das mutações dos genes BRCA 1 e BRCA 2 em famílias com médio e alto risco de câncer de mama e ovário no Brasil e encontrou mutações em BRCA 1 em dois homens com câncer de mama (Esteves et al., 2009).

Apesar de vários estudos sugerirem um pior prognóstico para o câncer de mama masculino (Joshi et al, 1996; Giordano et al., 2004), esta questão permanece em aberto. Pela sua condição anatômica, é frequente o diagnóstico tardio, pois a anatomia mamária no homem propicia uma invasão mais precoce das estruturas contíguas ao tumor, como a pele, o músculo peitoral e a parede torácica. Além disso, o rastreamento mamográfico realizado nas mulheres permite a detecção de tumores em estádios clínicos iniciais e com melhor

prognóstico. Nos homens, a mamografia não é um procedimento utilizado para rastreamento do câncer de mama, pois a mama no homem é rudimentar e o diagnóstico de lesões mamárias à palpação é mais fácil do que nas mulheres (Ravandi-Kashani e Hayes, 1998).

Donegan et al. (1998) após analisarem 217 casos de câncer de mama masculino em um estudo multicêntrico, concluíram que o pior prognóstico no homem, em relação às mulheres, estava relacionado ao diagnóstico em idade mais avançada, estádio mais avançado da doença ao diagnóstico e alta mortalidade por comorbidades associadas.

Em um estudo multicêntrico, Cutuli et al. (2009), analisaram as características clínicas, patológicas, tratamentos e fatores prognósticos de 489 casos de câncer de mama em homens e concluíram que o diagnóstico precoce e o uso de tratamentos adjuvantes decrescem as taxas de recidivas locais e aumentam as taxas de sobrevida.

Para mulheres com câncer de mama, o prognóstico e as modalidades de tratamento dependem de fatores clínico-patológicos e da expressão de marcadores moleculares. Para homens com câncer de mama o tratamento tem sido extrapolado do conhecimento do câncer de mama nas mulheres.

Em relação aos dados patológicos, todos os subtipos histológicos de câncer de mama descritos nas mulheres, também têm sido relatados nos homens. Aproximadamente, 90% de todos os tumores mamários no homem são carcinomas invasivos e os 10% restantes são não-invasivos. Os subtipos

histológicos predominantes dos carcinomas invasivos são carcinomas ductais, representando mais de 80% de todos os tumores. O carcinoma lobular é muito menos comum nos homens, e representam apenas 1% de todos os casos. Os raros subtipos, tais como o medular, o tubular, o mucinoso e o carcinoma de células escamosas são relatados nos homens, no entanto são bem mais incomuns do que nas mulheres. O carcinoma inflamatório e a doença de Paget têm uma frequência similar nas mulheres e nos homens (Giordano et al., 2002; Hill et al., 2005).

Em relação à expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica, os carcinomas da mama masculina têm uma maior taxa de receptores hormonais positivos do que os carcinomas da mama feminina (Pinero et al., 2010). Revisões de literatura indicam que aproximadamente 90% dos cânceres da mama em homens são receptores de estrógenos (RE) e 81% são receptores de progesterona (RP) positivos (Giordano et al., 2005). No entanto, o estado dos receptores hormonais não é considerado fator prognóstico independente para os homens (Giordano et al., 2004). A taxa de receptores de andrógeno (RA) nos homens com câncer de mama e sua relação com o prognóstico é controversa; no entanto, Kwiatkowska et al. (2003) encontraram forte correlação entre RA e sobrevida global e sobrevida livre de doença, sugerindo que a positividade deste marcador está relacionada com pior prognóstico.

Os marcadores moleculares são importantes fatores envolvidos na patogênese e prognóstico do câncer de mama feminino e estudos indicam também sua importância no câncer de mama masculino.

O proto-oncogene c-erb-B2 (HER2/*neu)* está associado a um pior prognóstico. A superexpressão do HER2, ou receptor de fator de crescimento epidérmico humano 2, ocorre em 20 a 30% dos cânceres de mama em mulheres. Estudos da superexpressão do HER2 em câncer de mama em homens são limitados e os resultados são conflitantes. Dados publicados sugerem menor frequência da superexpressão nos homens em relação às mulheres, e sua significância prognóstica continua controversa; no entanto alguns estudos têm associado a sua expressão com fatores prognósticos desfavoráveis e com um decréscimo na sobrevida global em homens com câncer de mama (Pich et al., 2000; Wang-Rodriguez et al., 2002; Fonseca et al., 2006; Ge et al., 2009).

O p53 é um gene supressor tumoral que induz a morte celular programada por bloqueio do ciclo celular e apoptose. A sua alteração é muito comum em mulheres com câncer de mama, estando mutado em aproximadamente 30% dos casos. Alguns estudos têm mostrado que a incidência da mutação do p53 é similar nas mulheres e nos homens com câncer de mama e está associada com diminuição da sobrevida (Anelli et al., 1995; Pich et al., 2000; Giordano et al., 2002). São necessários estudos para

avaliar a mutação do gene TP53 nos homens com câncer de mama e sua correlação com síndromes hereditárias ligadas ao câncer.

Em estudo realizado por Mourão Netto et al. (2001), em pacientes masculinos com câncer de mama, a expressão de c-erb-B2, c-myc e p53 foram analisadas em relação a parâmetros clínicos, patológicos e bioquímicos, tais como idade, estádio da doença, envolvimento linfonodal linfático e receptores de estrógeno e progesterona. Uma associação significativa foi encontrada entre a positividade da expressão do proto-oncogene c-erb-B2 e do gene supressor tumoral p53 em estádios avançados da doença. No entanto, estes marcadores biológicos não tiveram correlação estatisticamente significativa com a sobrevida global.

O bcl-2 é um proto-oncogene que inibe a apoptose e promove o crescimento celular. Tumores com bcl-2 superexpresso têm menor potencial proliferativo e sobrevida da célula prolongada; no entanto, em mulheres com câncer de mama este proto-oncogene tem sido correlacionado com fatores prognósticos favoráveis. Estudos têm investigado a incidência da expressão do bcl-2 em câncer de mama em homens, mas não tem sido mostrada relação prognóstica significante (Weber-Chappuis et al., 1996; Idelevich et al., 2003).

Na regulação do ciclo celular no controle da entrada da célula na fase S, está envolvida a ciclina D1. Em mulheres portadoras de câncer de mama este oncogene está relacionado com prognóstico favorável. Em homens com câncer de mama, a negatividade da ciclina D1 está associada com diminuição da

sobrevida livre de doença, indicando que o gene superexpresso pode ser um fator prognóstico favorável (Giordano et al., 2002).

O Ki-67 é um específico antígeno nuclear, que é expresso apenas em células proliferativas. Vários estudos investigaram a significância prognóstica deste marcador no câncer de mama em mulheres, e resultados sugerem um aumento do risco de recorrência e morte em pacientes com Ki-67 elevado (Cheang et al., 2009). Estudos mostraram que o Ki-67 está positivo em 20 a 40% dos homens com câncer de mama, e tem importante associação com receptores hormonais (RH) negativos e pior prognóstico (Wang-Rodriguez et al., 2002).

Em contraste com o câncer de mama feminino, informações sobre a prevalência e informações prognósticas a respeito dos novos marcadores moleculares são muito limitadas no câncer de mama masculino.

Tumores mamários humanos são tecidos histologicamente complexos, contendo uma variedade de tipos de células. Perou et al. (2000), desenvolveram um sistema de classificação dos tumores de mama baseados no perfil de expressão gênica. Dois tipos distintos de células epiteliais são encontrados na glândula mamária humana: células basais (e/ou mioepiteliais) e células epiteliais luminais. Estes dois tipos de células são distinguíveis por imuno-histoquímica: células epiteliais basais podem ser identificadas com anticorpos para queratina 5/6, 14 e 17 e células epiteliais luminais com anticorpos anti-queratinas 8/18. Muitos dos genes característicos das células

epiteliais basais da mama estão altamente expressos em um grupo de tumores. A divisão dos tumores de mama em subgrupos resultou em quatro diferentes classes moleculares: luminal-like, *basal-like*, HER2 positivo e mama *normal-like*. A importância desta classificação foi diferenciar os tumores com receptores hormonais negativos em *basal-like* e HER2 positivo.

Sorlie et al. (2003), confirmaram em larga-escala o padrão de expressão gênica dos carcinomas mamários em distintas subclasses de tumores e suas implicações clínicas e sugeriram subtipos moleculares adicionais: luminal A, luminal B, HER2 superexpresso, *basal-like* e mama *normal-like*. Nielsen et al. (2004), mostraram que os tumores de mama *basal-like* podem ser rotineiramente identificados usando a técnica imuno-histoquímica. O fenótipo *basal-like* foi definido pela expressão das citoqueratinas basais (5/6, 14 e 17), RE negativos, e ausência da expressão do HER2.

Um refinamento do perfil imuno-histoquímico atualizou a classificação dos subtipos de câncer de mama: *basal-like* (RE e RP negativos, HER2 negativo, CK 5/6 positivas), HER2 superexpresso (HER2 positivo e RE e RP negativos), luminal A (RE e/ou RP positivos e HER2 negativo), luminal B (RE e/ou RP positivos e HER2 positivo). Os tumores que não expressassem pela técnica imuno-histoquímica os marcadores RE, RP, HER2 e CK 5/6 eram considerados não classificados (Carey et al., 2006).

Analisando os fatores prognósticos e a expressão dos marcadores moleculares pela técnica imuno-histoquímica, Ciocca et al. (2006) identificaram

citoqueratinas distintas, o que ajudou a identificar subtipos de tumores com comportamentos clínicos diferentes em homens com câncer de mama. Algumas citoqueratinas expressas sugerem um subtipo patologicamente mais agressivo de câncer de mama masculino. Neste estudo, concluíram que o subtipo *basal-like* pode representar uma diferente entidade clínica, associada com tempo de sobrevida mais curto e que homens com câncer de mama têm o fenótipo *basal-like* com a mesma frequência que as mulheres.

Ge et al. (2009) examinaram retrospectivamente 42 casos de câncer de mama masculino, e classificaram em subtipos moleculares baseados no padrão de expressão de imunomarcadores. Os subtipos encontrados foram luminal A e B, mostrando uma característica imunofenotípica diferente daquelas encontradas no sexo feminino.

O número limitado de casos de câncer de mama nos homens, nos diversos serviços dificulta maiores estudos, no entanto, o uso dos marcadores moleculares e técnicas imuno-histoquímicas têm sido muito úteis na compreensão do desenvolvimento e progressão desta patologia. A relação destes marcadores moleculares com a sobrevida global e sobrevida livre de doença, e sua relação entre o câncer de mama nos homens e nas mulheres ainda não estão bem estabelecidos.

Alguns estudos de grupo controle foram realizados para melhor responder a estes questionamentos. A tabela 1 expressa os principais resultados das publicações neste assunto. Analisando estes estudos

concluímos que existem características do câncer de mama que são semelhantes nos sexos masculino e feminino, mas as potenciais diferenças existentes entre ambos necessitam ser melhor compreendidas para prover novas oportunidades de intervenções terapêuticas e melhorar os resultados do tratamento do câncer de mama em homens.

Tabela 1 – Estudos caso-controle do câncer de mama masculino em relação ao feminino

Autor/ano	Homens:mulheres (proporção)	Período do diagnóstico	Critérios de pareamento	Variáveis clínico-patológicas avaliadas
Levi et al., 1992	39:4199 (1:107,6)	1974 – 1988	Não definidos	Sexo, idade
Weber-Chappuis et al., 1996	66:190 (1:2,8)	1968 – 1991	Não definidos	Tamanho tumor, grau, LN axilares
Willsher et al., 1997	41:123 (1:3)	1974 – 1994	Idade, tamanho tumor, grau, estado linfonodal	Tratamento
Borgen et al., 1997	58:174 (1:3)	Homens 1973 – 1989 Mulheres 1976 – 1978	Estádio clínico e idade	Tamanho tumor, tipo histológico, LN axilares
Muir et al., 2003	75:240 (1:3,2)	1970 – 1996	Não definidos	Tamanho tumor, grau, LN axilares
Hill et al., 2005	2923:442.500 (1:151) SEER	1973 – 2001	Não definidos	Idade, estádio clínico
Anderson et al., 2010	5494:835.805 (1:152) SEER	1973 – 2005	Não definidos	Tamanho tumor, grau, estádio, LN axilares
Pinero et al., 2010	58:155 (1:2,6)	1976 – 2007	Ano	Idade, grau, estádio, LN axilares
Speirs; Ball, 2010	260:263 (1:1)	-	Não definidos	-

“continua”

“conclusão” Tabela 1 – Estudos caso-controle do câncer de mama masculino em relação ao feminino

Autor/ano	Variáveis expressas pela técnica imuno-histoquímica		SLD (%)	SG (%)	Sub-tipos Moleculares
	Analisadas	Resultados			
Levi et al., 1992	Não analisadas	-	Não avaliada	Similar entre homens e mulheres	-
Weber-Chappuis et al., 1996	RE, RP, p53, bcl-2, c-erb-B2, pS2, catepsina,	Maior frequência de RH positivos e p53 negativos nos homens	Não avaliada	Não avaliada	-
Willsher et al., 1997	Não analisadas	-	Similar entre homens e mulheres	Similar entre homens e mulheres	-
Borgen et al., 1997	RE, RP	Maior frequência de RH positivos nos homens	Não avaliada	Similar entre homens e mulheres	-
Muir et al., 2003	RE, RP, p53, bcl-2, c-erb-B2	Maior frequência de RE, RP e bcl-2 e menor de p53 e HER2 nos homens	Não avaliada	Não avaliada	-
Hill et al., 2005	RE, RP	Maior frequência de RH positivos nos homens	Não avaliada	Gênero não foi fator preditor de sobrevida	-
Anderson et al., 2010	RE	Maior frequência de RE positivo nos homens	Não avaliada	Melhora nas taxas mais lentamente nos homens	-
Pinero et al., 2010	RE, RP, RA, HER2, ki-67, p53	Maior frequência de RE, RP e p53 positivos nos homens	Não avaliada	Não avaliada	-
Speirs; Ball, 2010	EGFR, RE, RP, HER2, RA, CK 5/6, 14, 18, 19	Maior frequência de RA nos homens	Não avaliada	Não avaliada	Luminal A (mais comum) *Basal-like* (infrequente)

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Esta pesquisa tem como objetivo maior analisar as características clínicas, patológicas e as expressas pela técnica imuno-histoquímica do câncer de mama no sexo masculino, observadas em uma coorte histórica, em comparação com aquelas observadas no sexo feminino, relacionando com a sobrevida global e sobrevida livre de doença destes grupos de pacientes.

Objetivos específicos:

- Caracterizar e comparar os subtipos moleculares no câncer de mama masculino e feminino, através da expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica.

3. MÉTODOS

3. MÉTODOS

O método utilizado foi o estudo caso-controle, retrospectivo, descritivo e analítico, realizado no Hospital de Câncer de Barretos e no Hospital A. C. Camargo, nos Departamentos de Mastologia e de Anatomia Patológica, com aprovação dos Comitês de Ética em Pesquisa das referidas Instituições. Foram incluídos no estudo, os pacientes portadores de câncer de mama do sexo masculino atendidos no Hospital de Câncer de Barretos e no Hospital A C Camargo, no período de 1983 a 2008. No grupo controle foram incluídas as mulheres com câncer de mama atendidas nas mesmas Instituições e no mesmo período. Foram utilizados como critérios para pareamento, a década de diagnóstico, o estádio clínico e a faixa etária agrupada a cada 5 anos. Para o pareamento foi utilizado um programa estatístico (*SPSS 17.0 for Windows*®), e realizado de maneira aleatória, quando foi observada mais de uma paciente do sexo feminino nas mesmas condições.

Foram analisados os dados do Registro Hospitalar de Câncer dos hospitais envolvidos no estudo, sendo encontrados 8645 casos de câncer de mama no sexo feminino e 74 no sexo masculino no período de 1983 a 2008. Os casos que não tinham blocos de parafina disponíveis para a análise histológica e realização das reações imuno-histoquímicas foram excluídos desta análise. Nestes termos foram incluídos no estudo 180 pacientes, sendo

44 do sexo masculino e 136 do sexo feminino. Para evitar tendenciosidade e aprimorar o cálculo estatístico, foi realizada a proporção masculino/feminino na ordem estimada de 1:3.

Foram analisadas as variáveis clínicas, patológicas e as expressas pela imuno-histoquímica. A análise das variáveis clínicas foi feita através da revisão retrospectiva dos prontuários dos pacientes e foram observados: sexo, idade, história familiar de câncer, comorbidades associadas, tamanho do tumor, estado linfonodal da axila, estádio clínico/TNM e modalidades de tratamento realizados.

Frente às variáveis patológicas, foram avaliados: tipo e grau histológico, embolização linfática, embolização sanguínea, invasão perineural. Foi realizada a revisão de todos os casos por um único patologista do Hospital A C Camargo (AHJFMC).

Através da técnica imuno-histoquímica foram avaliados os seguintes marcadores: receptor de estrógeno, receptor de progesterona, receptor de andrógeno, HER2, bcl-2, Ki-67, p53, ciclina D1, citoqueratinas 5, 6, 8, 14, 17 e 18. A expressão do marcador HER2 avaliada por imuno-histoquímica foi confirmada por hibridização *in situ* de fluorescência (FISH).

Foram analisadas as modalidades de tratamento realizadas em cada grupo, além do tempo de seguimento, recorrência e óbito pela doença. Considerou-se perda de seguimento quando o paciente não retornou após 24 meses da data prevista do retorno.

A caracterização dos subtipos moleculares pelo método imuno-histoquímico foi baseada nos receptores de estrógeno e progesterona, HER2 e citoqueratinas. Considerou-se a seguinte classificação, de acordo com modelo proposto por Carey et al. (2006):

- Luminal A: RE e/ou RP positivos, HER2 negativo;
- Luminal B: RE e/ou RP positivos, HER2 positivo;
- HER2 superexpresso: HER2 positivo, RE e RP negativos;
- *Basal-like*: HER2 negativo, RE e RP negativos, CK 5 e 6 positivas;
- Não classificável: RE, RP, HER2 e CK 5 e 6 negativos.

3.1. Blocos de parafina

Para otimizar o estudo, construiu-se um TMA (do inglês "*Tissue Microarray*"). Blocos de parafina dos casos selecionados foram resgatados dos arquivos do Departamento de Anatomia Patológica do Hospital de Câncer de Barretos e do Hospital A C Camargo. Uma nova lâmina corada pela técnica da hematoxilina-eosina (HE) foi confeccionada e analisada, escolhendo-se áreas representativas da neoplasia, que foram delimitadas. Utilizando-se um "*tissue microarrayer*" (Beecher Instruments, Silver Spring, MD), cilindros de 1mm de três áreas distintas do tumor (amostragem em triplicata) foram retirados e transferidos para um bloco receptor. O bloco receptor foi cortado em micrótomo rotativo na espessura de 5 µm, colhendo-se material com o "tape" adesivo e

colando-se em lâmina apropriada. As lâminas obtidas foram submetidas à irradiação ultravioleta por 30 minutos e mergulhadas em solução solvente TPC (1, 2, 3-Tricloroproprano), sendo posteriormente secadas à temperatura ambiente. Após a secagem, os tapes foram retirados e as lâminas imersas em banho de parafina, sendo armazenadas a vácuo, em freezer a -20º C, até a realização das reações imuno-histoquímicas.

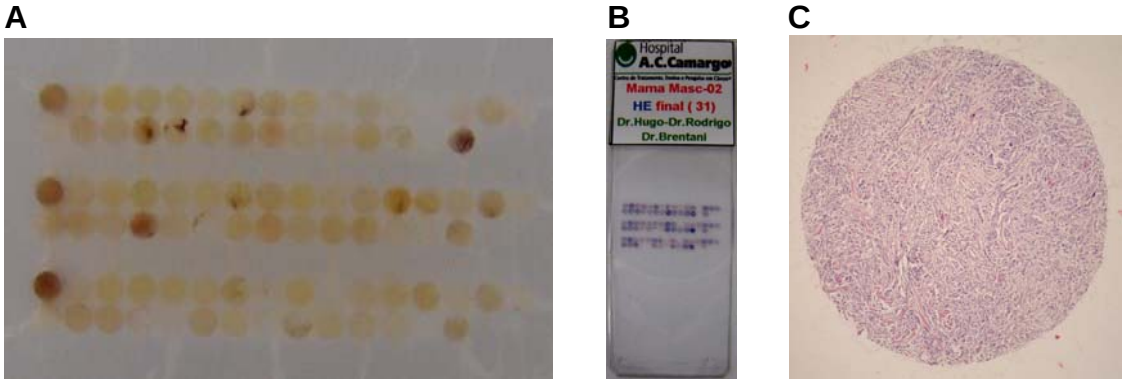


Figura 1. (A) Bloco de parafina do TMA, em triplicata (B) Lâmina do bloco de parafina (HE) (C) Lâmina de um caso, aumento de 100X (HE).

3.2. Análise de marcadores pela técnica de imuno-histoquímica

As reações imuno-histoquímicas foram realizadas pelo método HRP ("Horseradish Peroxidase") polimérico livre de biotina. Os passos técnicos realizados estão detalhados abaixo:

- Desparafinização das lâminas por 24 horas em estufa a 60°C.

- Imersão em Xilol a 60°C por 20 minutos; Xilol à temperatura ambiente por 20 minutos; Etanol 100% por 30 segundos; Etanol 95% por 30 segundos; Etanol 70% por 30 segundos.
- Lavagem das lâminas em água corrente e destilada
- Imersão das lâminas em panela de pressão (Eterna®, Nigro) com solução tampão citrato 10mM pH 6.0 pré-fervida e fechamento da panela com a válvula de segurança aberta.
- Após a saída do vapor saturado, colocação da válvula de segurança para pressurização total. Contados 4 minutos após esse sinal.
- Colocação da panela fechada sob água corrente até a despressurização total para abertura e retirada das lâminas.
- Lavagem em água corrente e destilada.
- Bloqueio da peroxidase endógena com H_2O_2 3%, com 3 trocas de 10 minutos cada.
- Lavagem em água corrente e destilada.
- Lavagem com solução salina tamponada com fosfatos (PBS-phosphate buffered saline) 10mM pH 7.4 por 5 minutos.
- Incubação das lâminas com os anticorpos primários diluídos em títulos previamente estabelecidos conforme tabela abaixo, em tampão PBS contendo albumina bovina (BSA) 1% (Sigma, cod # A9647, EUA) e azida sódica 0,1%, por 18 horas a 4°C em câmara úmida.

- Incubação por 30 min a 37° C com “Post Primary Block” (NovoLink Max Polymer cod # RE7260-k, Reino Unido).
- Lavagem com tampão PBS com 3 trocas de 3 min cada.
- Incubação com o “NovoLink Polymer” por 30 min a 37° C.
- Lavagem em tampão PBS com 3 trocas de 3 minutos cada.
- Incubação das lâminas em solução substrato: 100 mg% 3,3’ “Diaminobenzidine Tetrahydrochloride” (DAB) (Sigma, cod# D-5637, EUA); 1 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO); 1 mL de H_2O_2 6%; 100 mL de PBS; por 5 minutos a 37ºC, ao abrigo da luz.
- Observação, ao microscópio, nas lâminas controles, o desenvolvimento de precipitado castanho-dourado, como produto final da reação.
- Lavagem em água corrente e água destilada por 3 minutos.
- Contra coloração com Hematoxilina de Harris por 1 minuto.
- Lavagem em água corrente e destilada.
- Imersão por 2 vezes em água amoniacal (hidróxido de amônio 0,5%), lavando-se em seguida em água corrente e destilada.
- Desidratação das lâminas em Etanol 80% por 30 segundos; Etanol 95% por 30 segundos; Etanol 100% por 30 segundos, duas vezes seguidas; Xilol por 30 segundos, 4 vezes seguidas.
- Montagem das lâminas em “Entellan neu” (Merck, 1.07961, Alemanha).

Tabela 2 - Perfil dos marcadores para técnica imuno-histoquímica

Anticorpos	Clones	Títulos	Fabricantes
Bcl-2	124	1:600	DakoCytomation, cat# M0887, Glostrup, Dinamarca
C-erb-B2	Policlonal feito em Coelho	1:2000	DakoCytomation, cat # A485, Glostrup, Dinamarca
Receptor de estrógeno	Monoclonal feito em coelho clone SP1	1:100	Neomarkers, cat# RM9101, Fremont, CA, EUA
Receptor de progesterona	PgR 636	1:500	Dako cat# M3569
Ciclina D1	Monoclonal feito em coelho RBT14	Pronto para uso	BIOSB, cat# BSB5366, Santa Barbara, Ca, EUA
P53	DO-7	1:200	DakoCytomation, cat#M7001, Glostrup, Dinamarca
Citoqueratina 5	XM26	1:300	Neomarkers, cat# MS-1896, Fremont, CA, EUA
Citoqueratina 6	LHK6	1:100	Novocastra cat # NCL-CK6
Citoqueratina 8	35BH11	1:200	DakoCytomation cat# 0631
Citoqueratina 14	LL002	1:400	Biogenex cat # 146, San Ramon, CA, EUA
Citoqueratina 17	E3	1:20	Novocastra, cat# NCL-CK17, Newcastle, Reino Unido
Citoqueratina 18	DC10	1:800	DakoCytomation, at# M7010
Ki-67	MIB-1	1:200	DakoCytomation, cat# M7240, Glostrup, Dinamarca
Receptor de andrógeno	AR441	1:200	Neomarkers, cat# MS-443,

Na análise microscópica das reações imuno-histoquímicas os cortes foram analisados em microscópio óptico, com varredura das lâminas em aumento de 40X, aplicando-se o método semi-quantitativo.

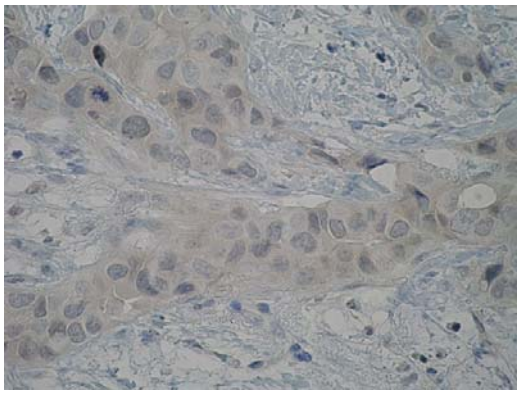
A análise semi-quantitativa foi feita quanto à positividade ou negatividade do marcador. Como o TMA foi realizado em triplicata, três áreas distintas dos tumores foram analisadas e o marcador foi considerado positivo se pelo menos uma das três áreas estivessem marcadas.

Receptores de estrógeno e progesterona foram considerados positivos quando houve marcação nuclear em mais de 1% das células tumorais (Hammond et al., 2010).

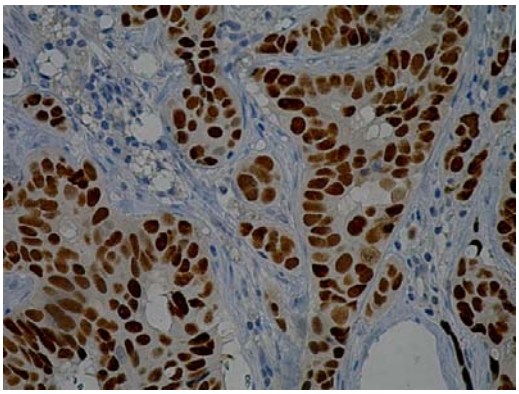
O receptor de andrógeno, ciclina D1 e p53 foram considerados positivos quando houve marcação nuclear em mais de 10% das células tumorais (Ogawa et al., 2008; Akkiprik et al., 2009).

O marcador bcl-2 foi considerado positivo quando houve marcação citoplasmática (fraca ou forte) em mais de 10% das células tumorais (Callagy et al., 2008).

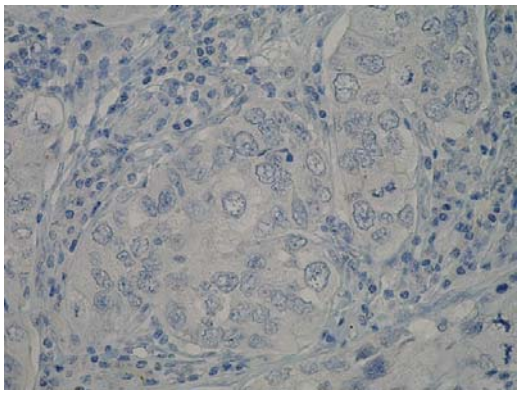
As citoqueratinas 5, 6, 8, 14, 17 e 18 foram consideradas positivas quando a marcação citoplasmática (fraca ou forte) foi observada nas células tumorais (Nielsen et al., 2004; Collins et al., 2009).



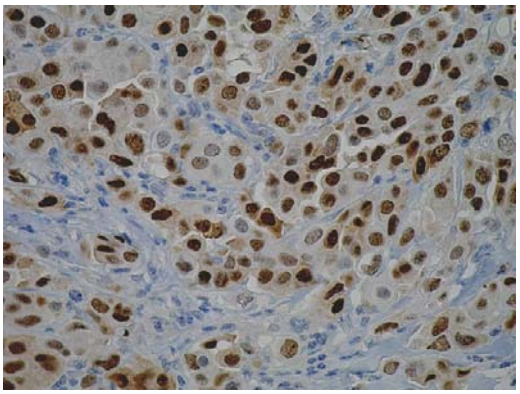
RE (negativo)



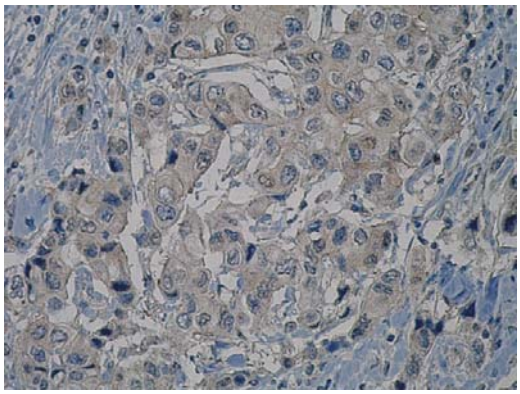
RE (positivo)



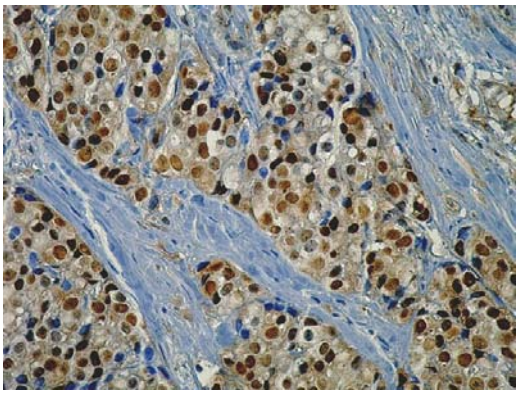
RP (negativo)



RP (positivo)

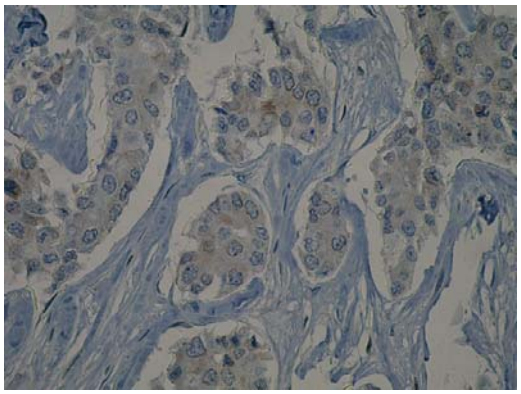


RA (negativo)

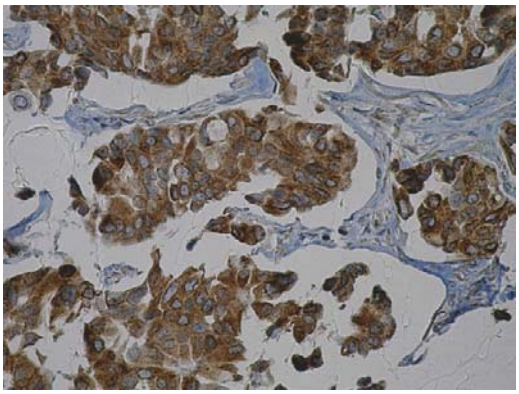


RA (positivo)

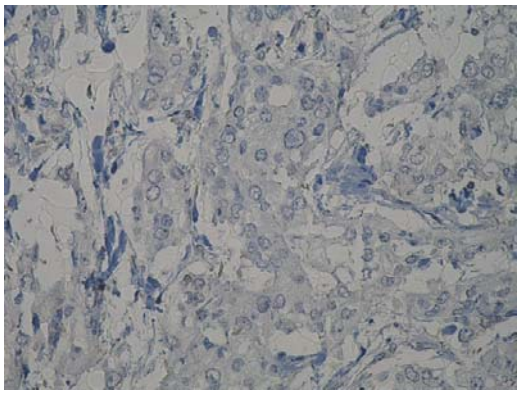
Figura 2. Padrões de expressão dos marcadores pela técnica IHQ (RE, RP, RA). Aumento de 400X.



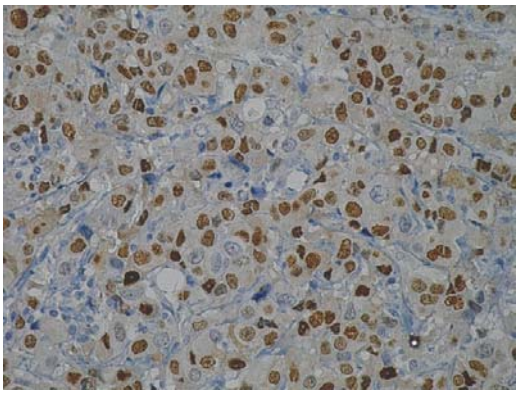
Bcl-2 (negativo)



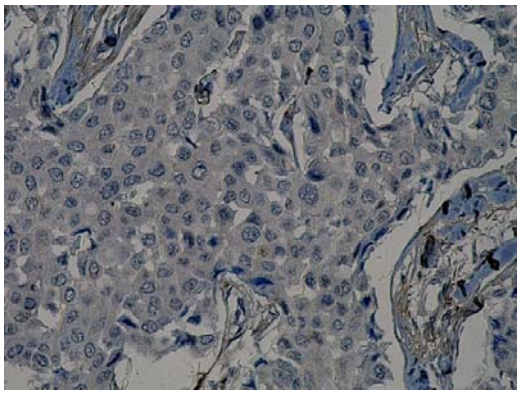
Bcl-2 (positivo)



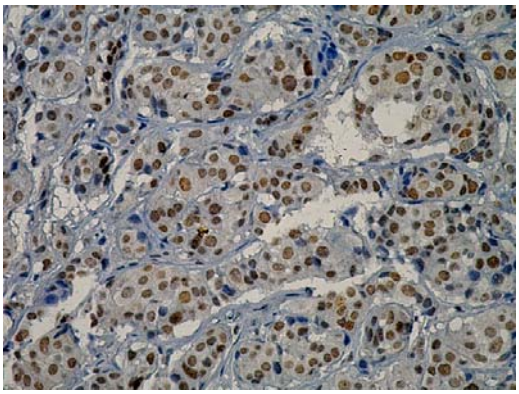
Ciclina D1 (negativo)



Ciclina D1 (positivo)

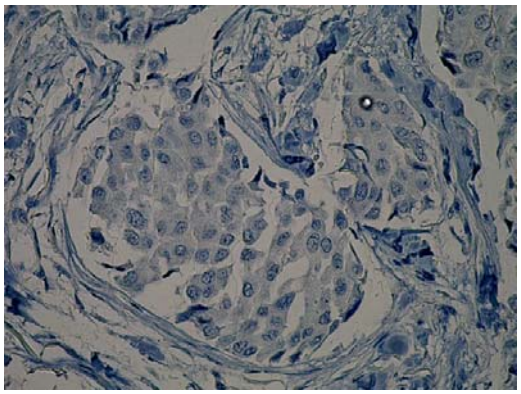


p53 (negativo)

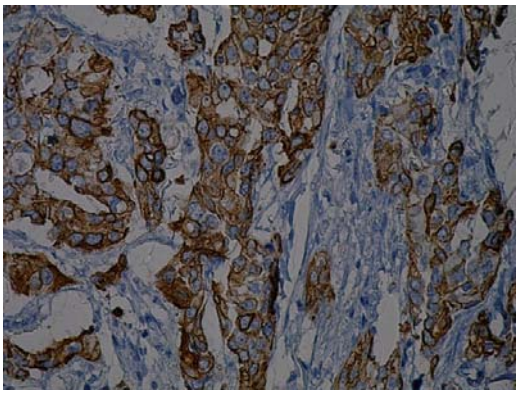


p53 (positivo)

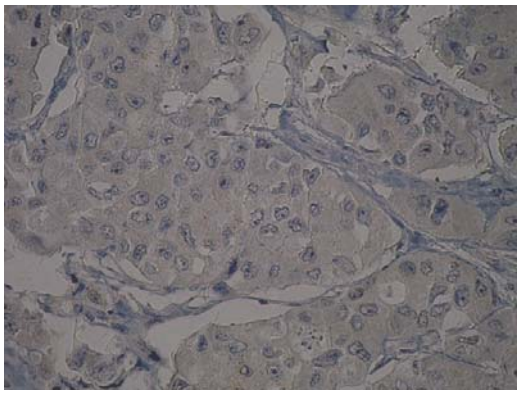
Figura 3. Padrões de expressão dos marcadores pela técnica IHQ (Bcl-2, ciclina D1, p53). Aumento de 400X.



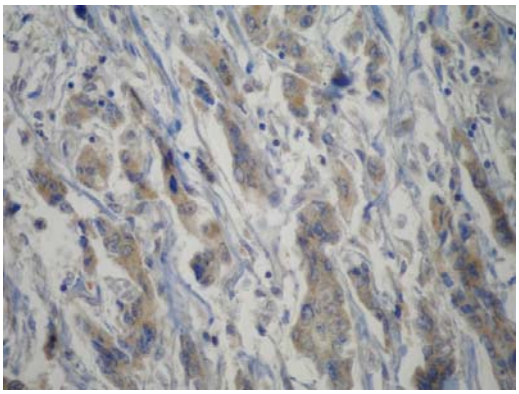
CK 5 (negativo)



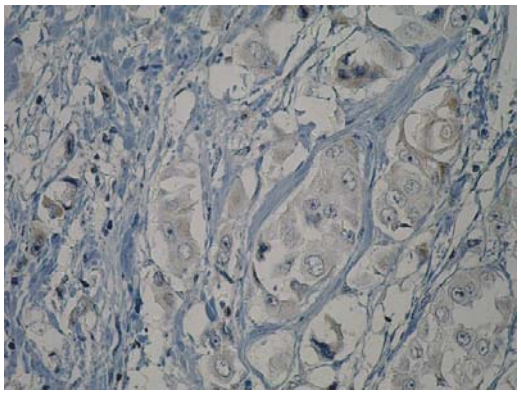
CK 5 (positivo)



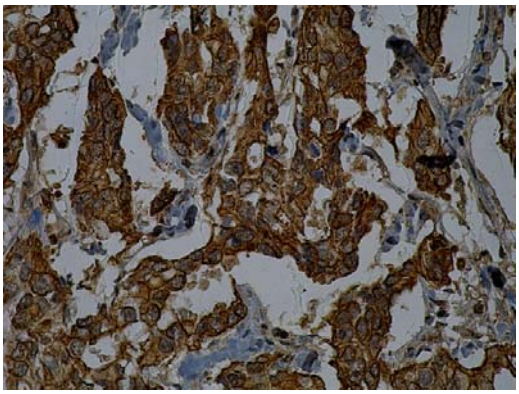
CK 6 (negativo)



CK 6 (positivo)

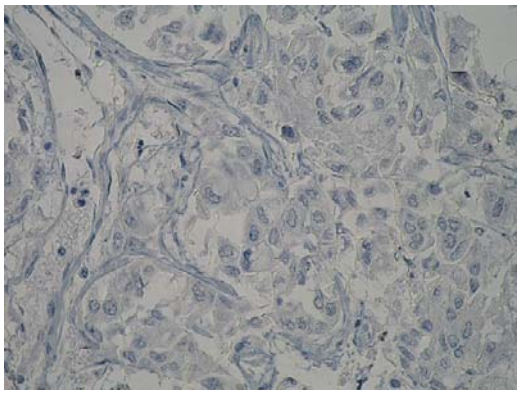


CK 8 (negativo)

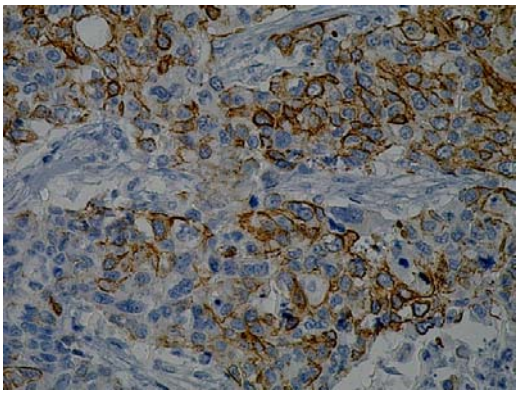


CK 8 (positivo)

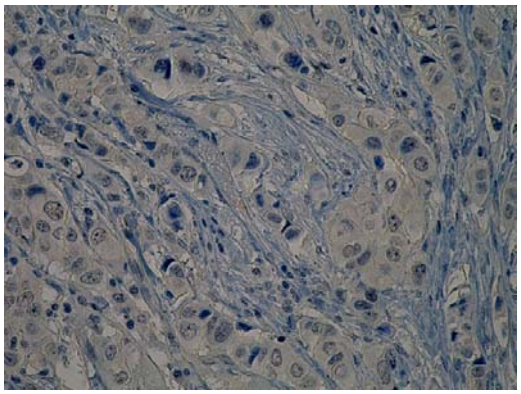
Figura 4. Padrões de expressão dos marcadores pela técnica IHQ (CK 5, CK 6, CK 8). Aumento de 400X.



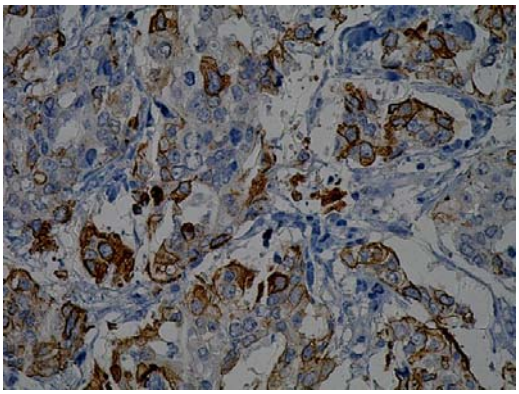
CK 14 (negativo)



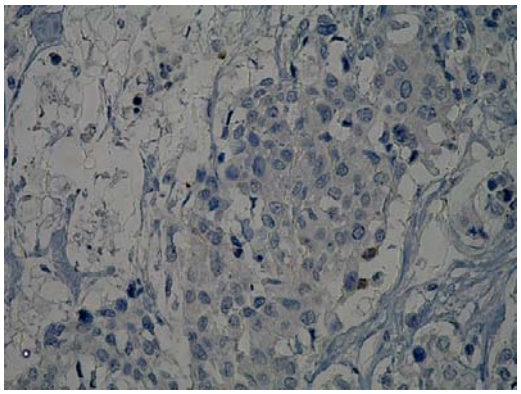
CK 14 (positivo)



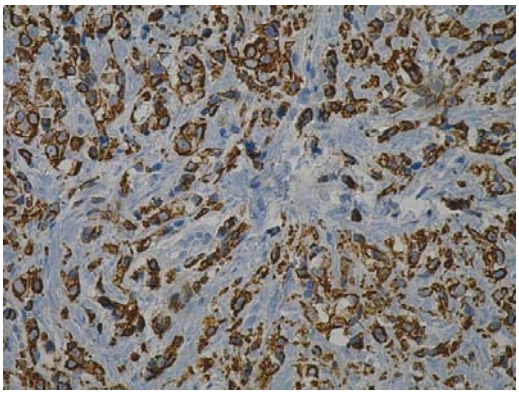
CK 17 (negativo)



CK 17 (positivo)



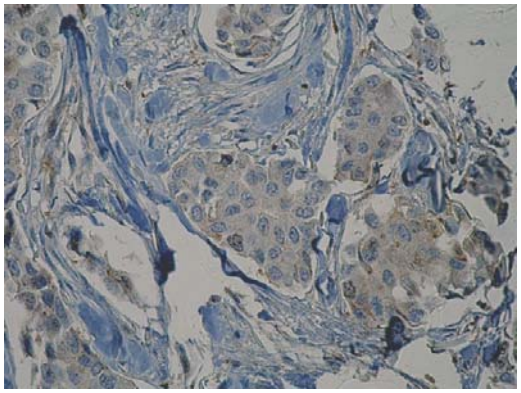
CK 18 (negativo)



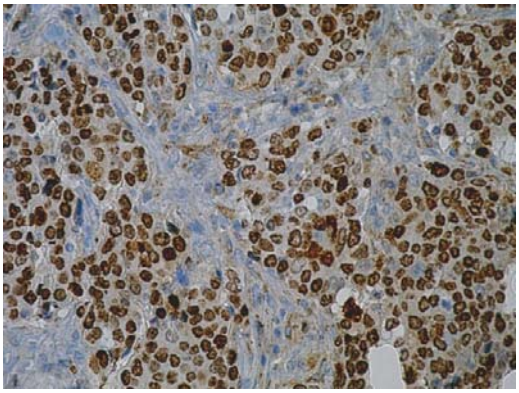
CK 18 (positivo)

Figura 5. Padrões de expressão dos marcadores pela técnica IHQ (CK 14, CK 17, CK 18). Aumento de 400X.

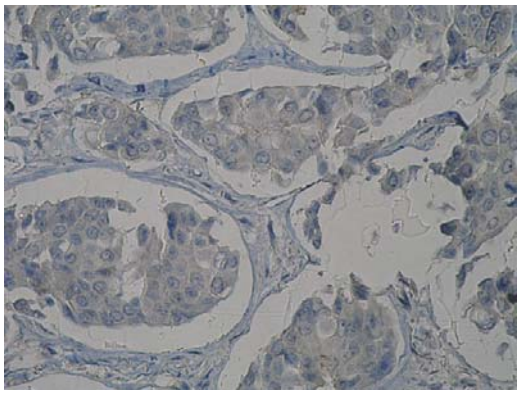
O Ki-67 foi considerado em porcentagem de células marcadas (Penault-Llorca et al., 2009). Para a análise estatística, como não existe consenso na literatura em relação à positividade, foi considerado um ponto de corte de 10%, sendo positivo, se mais de 10% das células tumorais estivessem marcadas (Cheang et al., 2009).



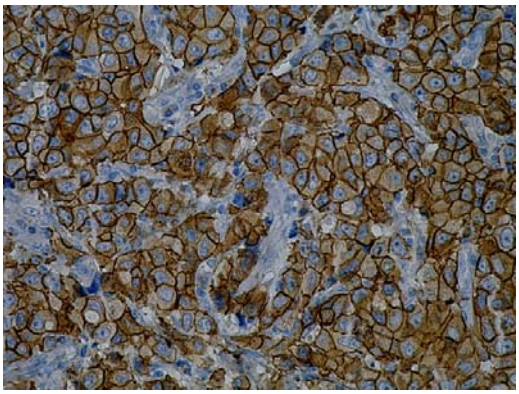
Ki-67 (negativo)



Ki-67 (positivo)



HER2 (negativo)



HER2 (positivo)

Figura 6. Padrões de expressão dos marcadores pela técnica IHQ (Ki-67, HER2). Aumento de 400X.

Para a análise do HER2 foram utilizados os critérios da ASCO (Wolff et al., 2007). O HER2 foi avaliado por imuno-histoquímica conforme a figura 7 e os casos foram confirmados com FISH.

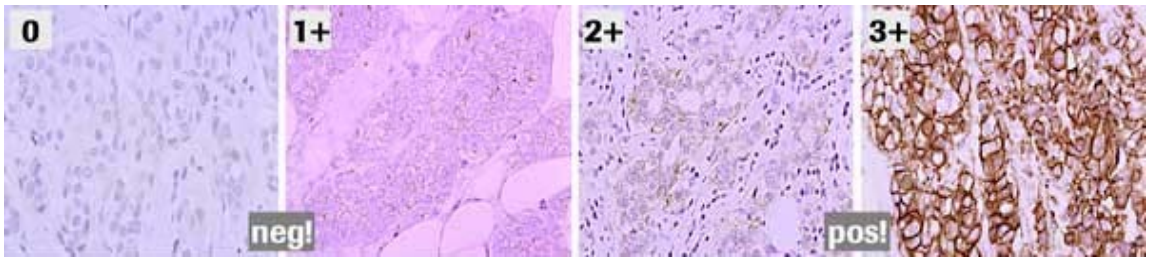


Figura 7. Padrão de avaliação do HER2 pela técnica imuno-histoquímica. (0) Sem marcação da membrana. (1+) Marcação parcial da membrana. (2+) Marcação completa da membrana, fraca ou moderada em mais de 10% das células tumorais. (3+) Marcação completa e intensa da membrana em mais de 10% das células tumorais.

3.3. Hibridização *in situ* de fluorescência (FISH)

Foi utilizado o kit de sondas para a análise do HER2 (DAKO, código de catálogo k5331), conforme orientações do fabricante. Os passos técnicos realizados estão detalhados abaixo:

No primeiro dia:

- Desparafinização das lâminas em Xilol – 3 banhos de 10 minutos cada.
- Passagem em álcool – 3 banhos de 5 minutos cada.
- Passagem em água destilada – 3 banhos de 2 minutos cada.

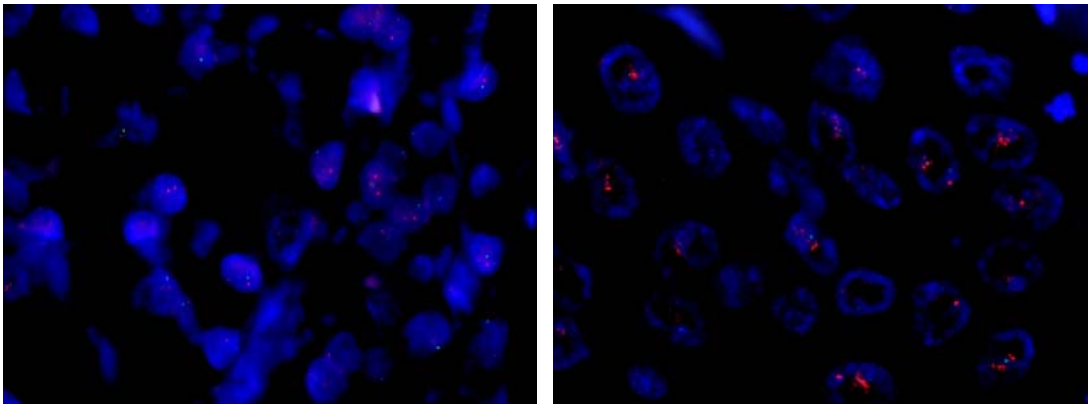
- Imersão em solução 0.2N HCl – por 20 minutos à temperatura ambiente.
- Pré-tratamento em Citrato pH 6,0 - 80º C em banho-maria por 1hora.
- Digestão enzimática com pepsina (pronta para uso) por 7 minutos à temperatura ambiente.
- Lavagem em solução de 2X SSC por 2 minutos à temperatura ambiente.
- Desidratação em álcool 75%, 80%, 100% por 2 minutos cada.
- Secagem das lâminas ao ar.
- Aplicação da sonda ao abrigo da luz: 10µl e incubação no hibridizador para desnaturação e hibridização.

No segundo dia:

- Pré-aquecimento de solução de 1,5M UREA/0,1X SSC em banho-maria a 45ºC.
- Imersão das lâminas em solução de UREA/0,1X SSC – 45ºC por 30 minutos.
- Lavagem em solução 2X SSC por 2 minutos à temperatura ambiente.
- Desidratação em álcool 75%, 80% e 100% por 2 minutos cada.
- Secagem das lâminas ao ar.
- Aplicação de 15µl DAPI e montagem da lâmina com lamínula.

Na leitura das lâminas é contado o número de sinais fluorescentes presentes em 60 núcleos não sobrepostos, aleatoriamente escolhidos em pelo

menos duas áreas diferentes na mesma secção. A amplificação é registrada com um valor absoluto. Casos com número médio de cópias do HER2/célula <4 são classificados como não amplificados (negativos) e casos com número médio de cópias do HER2/célula >4 são referidos como amplificados (positivos), conforme demonstrado na figura 8.



HER2 não amplificado (negativo) HER2 amplificado (positivo)

Figura 8. Padrão de expressão do HER2 pela hibridização *in situ* de fluorescência (FISH).

3.4. Análise estatística

Os dados coletados em ficha padronizada foram tabulados no programa *Excel for Windows*® e transportados para o programa *SPSS 17.0 for Windows*® que foi utilizado para análise das variáveis.

A estatística descritiva foi utilizada para a caracterização da amostra. Foi realizado o teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fisher para a

comparação entre as variáveis categóricas, e o teste t de Student para a comparação das variáveis contínuas, dependendo dos valores esperados nas tabelas de contingência.

A análise de sobrevida foi realizada através da técnica de Kaplan Meier, sendo utilizado o teste de log rank para comparação das curvas. Visando uma melhor avaliação prognóstica em 5 anos, na análise de sobrevida foram incluídos os casos admitidos até 2005 e truncou-se o tempo de seguimento em 60 meses.

Utilizou-se o modelo de riscos proporcionais de COX para a análise multivariada e identificação dos fatores prognósticos independentes do grupo todo. Não foi realizada a análise multivariada estratificada pelo gênero em virtude do número reduzido de casos.

Para todos os testes estatísticos, o nível de significância considerado foi 5%.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Descrição da amostra

No Hospital de Câncer de Barretos e no Hospital A C Camargo, de 1983 a 2008 foram encontrados 8645 casos de câncer de mama no sexo feminino e 74 no sexo masculino. Os casos de câncer de mama no sexo masculino corresponderam a 0,85% dos casos de câncer de mama. Um total de 180 pacientes com câncer de mama foram incluídos no estudo, sendo 44 homens e 136 mulheres (1 homem : 3 mulheres).

Tabela 3 – Variáveis relacionadas ao pareamento e seleção dos pacientes

Variável	Categoria	Masculino	Feminino	Total	P
Período	1983 a 1989	1 (2,3%)	13 (9,6%)	14 (7,8%)	0,28
	1990 a 1999	15 (34,1%)	45 (33,1%)	60 (33,3%)	
	2000 a 2008	28 (63,6%)	78 (57,4%)	106 (58,9%)	
Faixa etária	< 50 anos	8 (18,2%)	37 (27,2%)	45 (25,0%)	0,24
	50 - 59 anos	13 (29,5%)	35 (25,7%)	48 (26,7%)	
	60 – 69 anos	7 (15,9%)	32 (23,5%)	39 (21,7%)	
	70 anos ou mais	16 (36,4%)	32 (23,5%)	48 (26,7%)	
Estádio clínico	0 e 1	8 (18,6%)	22 (16,2%)	30 (16,8%)	0,90
	2	13 (30,2%)	49 (36,0%)	62 (34,6%)	
	3	16 (37,2%)	49 (36,0%)	65 (36,3%)	
	4	6 (14,0%)	16 (11,8%)	22 (12,3%)	

O pareamento foi realizado de acordo com a década do diagnóstico, estádio clínico e faixa etária e a comparação entre os grupos não mostrou diferença significativa conforme demonstrado na tabela 3.

No grupo todo, a idade variou de 35 a 85 anos, com mediana de 58 anos, o tempo de história da doença variou de 1 a 120 meses, com mediana de 5 meses, e em relação ao tamanho do tumor a mediana foi de 3,5 cm, variando de 0,3 a 15 cm. Os estádios clínicos 0, 1 e 2 corresponderam a 51,4% dos casos, o estádio clínico 3 a 36,3% e o estádio clínico 4 a 12,3%. Os linfonodos axilares estavam negativos em 93 pacientes (52,8%) e positivos em 83 (47,2%).

Em relação ao tratamento realizado, 78 pacientes (55,3%) foram submetidos à mastectomia. O esvaziamento axilar foi realizado em 98 pacientes (69,5%) e 17 pacientes, ou seja, 12,1% foram submetidos ao linfonodo sentinela. A quimioterapia, a radioterapia e a hormonioterapia foram realizadas em 73,1%, 71,3% e 47,1% dos pacientes respectivamente.

O carcinoma ductal foi o tipo histológico mais comum, correspondendo a 86,7% dos casos. Os graus histológicos 1 e 2 corresponderam a 72,7%. A embolização linfática, sanguínea e invasão perineural estavam presentes em 45,7%, 17,3% e 15,4% dos casos respectivamente.

Em relação à expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica, o receptor de estrógeno foi expresso em 77,4% dos casos, o receptor de progesterona em 67,3% e o receptor de andrógeno em 41,5%. A

proteína p53, a ciclina D1 e o bcl-2 foram expressos em 37,9%, 65% e 61,8% dos casos respectivamente. O HER2 foi superexpresso em 25,3% e o ki-67 estava positivo em 19,1%.

Em relação aos fenótipos de câncer de mama, foram utilizados os mesmos critérios utilizados por Carey et al. (2006). O subtipo *basal-like* foi encontrado em 7,2% (10 casos), o luminal A em 59,0% (82 casos), o luminal B em 20,9% (29 casos), o HER2 superexpresso em 5,8% (8 casos) e não classificável em 7,2% (10 casos).

Dos casos *basal-like* 60% eram estádio clínico 3, 44,4% apresentavam linfonodos axilares positivos, 50% eram grau histológico 3 e a embolização linfática foi detectada em 60% dos casos. O receptor de andrógeno foi negativo em 80% dos casos e o bcl-2 em 70%. A ciclina D1 estava positiva em 30% e o p53 e o ki-67 estavam positivos em 60% dos casos.

Dos luminais A, 50% eram estádios clínicos 0, 1 e 2, 51,3% apresentaram linfonodos axilares negativos, 81,7% eram graus histológicos 1 e 2. As embolizações linfáticas e sanguíneas estavam presentes em 45,1% e 14,6% respectivamente. O receptor de andrógeno foi positivo em 48,7% dos casos, a ciclina D1 em 76,3%, o bcl-2 em 75,9% e o p53 em 37,3%. Em relação ao Ki-67, o índice de proliferação estava até 10% em 59,3% dos casos.

Em relação ao luminal B, 58,8% eram estádios clínicos 0, 1 e 2, 50% apresentaram linfonodos axilares positivos e 62,1% eram graus histológicos 1 e 2. As embolizações linfáticas estavam presentes em 55,2%, as embolizações

sanguíneas em 20,7% e a invasão perineural em 17,2% dos casos. O receptor de andrógeno foi positivo em 48,3%. A ciclina D1 e o bcl-2 foram positivos em 75 e 65,5% dos casos respectivamente, e o p53 foi negativo em 69%. Em relação ao Ki-67, estava maior de 10% em 51,7% dos casos.

Nos casos HER2 superexpresso, 50% eram estádio clínico 3 e 4, e em relação aos linfonodos axilares 75% eram positivos. Os graus histológicos 1 e 2 corresponderam a 75% dos casos. As embolizações linfáticas e sanguíneas estavam presentes em 62,5 e 50% dos casos respectivamente. O receptor de andrógeno e a ciclina D1 foram negativos em 75 e 62,5% respectivamente, e o bcl-2 foi negativo em 100% dos casos. O p53 foi positivo em 50% dos casos e o Ki-67 estava em até 10% em 75%.

A análise comparativa das citoqueratinas mostrou que as CK 8 e 18 foram as mais frequentes em todos os subtipos moleculares classificados pela técnica imuno-histoquímica. No luminal A, luminal B e HER2 superexpresso as CK 5, 6, 14 e 17 foram pouco frequentes.

4.2. Análises de associações

Na análise estratificada de acordo com o gênero, a idade variou de 35 a 85 anos, a mediana foi de 61 anos, nos homens, e variou de 31 a 86 anos, a mediana de 57,5 anos, nas mulheres. O tempo de história da doença foi maior

nos homens, com mediana de 6 meses, enquanto nas mulheres a mediana foi de 4,5 meses (P=0,03). Em relação ao tamanho do tumor e ao tempo de seguimento dos pacientes não houve diferença significativa entre os grupos.

Tabela 4 – Variáveis contínuas de acordo com o gênero

Variáveis		Média	Mediana	Intervalo	Desvio	P
Idade (anos)	Masculino	61,7	61,0	35 – 85	13,4	0,17
	Feminino	58,3	57,5	31 – 86	12,7	
Tempo de história (meses)	Masculino	13,0	6,0	1 – 60	15,4	0,03
	Feminino	7,8	4,5	1 – 60	10,3	
Tamanho do tumor (cm)	Masculino	4,1	3,0	0,8 – 12	3,2	0,22
	Feminino	4,5	4,0	0,3 – 15	3,1	
Seguimento (meses)	Masculino	52,8	42,7	0,2 – 185	46,0	0,32
	Feminino	60,1	45,5	1,4 – 186	48,4	

Em relação à história familiar de câncer, apenas 6 homens (17,1%) tinham casos positivos na família. Em relação às mulheres a história familiar para câncer foi positiva em 38 casos (28,4%), porém não houve diferença significante entre os grupos (P=0,17).

Em relação às comorbidades associadas, 37,1% dos homens e 49,1% das mulheres apresentavam alguma comorbidade, mas esta diferença não foi significativa, estatisticamente (P=0,22).

Dos pacientes do sexo masculino, todos apresentavam massa palpável na mama ao diagnóstico, e em relação às mulheres, 16 pacientes (15,1%) não tinham massa palpável ao diagnóstico (P=0,01).

Tabela 5 – Variáveis relacionadas à apresentação dos pacientes ao diagnóstico

Variável	Categoria	Masculino	Feminino	Total	P
História familiar	Negativa	29 (82,9%)	96 (71,6%)	125 (74,0%)	0,17
	Positiva	6 (17,1%)	38 (28,4%)	44 (26,0%)	
Massa palpável	Ausente	0 (0,0%)	16 (15,1%)	16 (11,3%)	0,01
	Presente	35 (100,0%)	90 (84,9%)	125 (88,7%)	
Comorbidade	Ausente	22 (62,9%)	54 (50,9%)	76 (53,9%)	0,22
	Presente	13 (37,1%)	52 (49,1%)	65 (46,1%)	

Ao diagnóstico, 48,8% dos homens e 52,2% das mulheres com câncer de mama estavam nos estádios 0, 1 e 2, e 37,2 e 36,0% dos homens e mulheres, respectivamente estavam no estádio clínico 3. Os tumores maiores do que 5 cm, ou com comprometimento de pele ou parede torácica (T3 e T4) foram mais frequentes no sexo feminino (45,6%), em comparação ao sexo

masculino (37,3%). Tinham doença metastática 14% dos homens e 11,8% das mulheres, ao diagnóstico. Em relação ao estádio clínico no diagnóstico, não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos (P=0,90). Em relação ao estado linfonodal 62,5% dos homens apresentavam linfonodos positivos na axila, enquanto 42,6% das mulheres apresentaram axila comprometida (P=0,02).

Tabela 6 – Variáveis relacionadas ao estadiamento clínico (TNM / 2002)

Variável	Categoria	Masculino	Feminino	Total	P
EC – T	Tis	1 (2,3%)	6 (4,4%)	7 (3,9%)	0,35
	T1	13 (30,2%)	22 (16,2%)	35 (19,6%)	
	T2	13 (30,2%)	46 (33,8%)	59 (33,0%)	
	T3	2 (4,7%)	10 (7,4%)	12 (6,7%)	
	T4	14 (32,6%)	52 (38,2%)	66 (36,9%)	
Estado linfonodal	N 0	15 (37,5%)	78 (57,4%)	93 (52,8%)	0,02
	N +	25 (62,5%)	58 (42,6%)	83 (47,2%)	
EC – TNM	0 e 1	8 (18,6%)	22 (16,2%)	30 (16,8%)	0,90
	2	13 (30,2%)	49 (36,0%)	62 (34,6%)	
	3	16 (37,2%)	49 (36,0%)	65 (36,3%)	
	4	6 (14,0%)	16 (11,8%)	22 (12,3%)	

A correlação entre o estado linfonodal e estádio clínico, em relação ao gênero, mostrou que quanto mais avançado o estádio clínico no diagnóstico, maior a porcentagem de linfonodos axilares positivos. No sexo masculino 60% dos pacientes nos estádios clínicos 3 e 4 apresentavam linfonodos axilares

comprometidos, e no sexo feminino 81% das pacientes, sendo esta diferença estatisticamente significativa em ambos os sexos (P<0,01).

A correlação entre o estado linfonodal e estádio clínico T em relação ao gênero, mostrou que quanto maior o tamanho do tumor maior a porcentagem de linfonodos axilares positivos, sendo esta diferença estatisticamente significativa no sexo feminino (P<0,01) (Tabela 7).

Tabela 7 – Correlação entre estado linfonodal e EC-T de acordo com o gênero

Variável	Categoria	Masculino			Feminino		
		N0	N+	P	N0	N+	P
EC-T	Tis	1 (6,7%)	0 (0,0%)	0,25	6 (7,7%)	0 (0,0%)	<0,01
	T1	6 (40,0%)	5 (20,0%)		16 (20,5%)	6 (10,3%)	
	T2	3 (20,0%)	10 (40,0%)		38 (48,7%)	8 (13,8%)	
	T3	0 (0,0%)	2 (8,0%)		3 (3,8%)	7 (12,1%)	
	T4	5 (33,3%)	8 (32,0%)		15 (19,2%)	37 (63,8%)	

Em relação ao tratamento, em todos os homens com câncer de mama que foram submetidos a tratamento cirúrgico foi realizada a mastectomia. Nas mulheres a mastectomia foi realizada em 46,2% e a cirurgia conservadora em 36,8%. Houve diferença significante entre os grupos em relação à cirurgia realizada nas mamas (P<0,01). Em 17,1% dos homens e 17% das mulheres a cirurgia não foi realizada, devido à doença metastática. A maioria foi submetida a esvaziamento axilar nos dois grupos.

A terapia com quimioterapia (adjuvante ou neoadjuvante) foi realizada em 74,3% dos homens e 72,7% das mulheres com câncer de mama, e a radioterapia foi realizada em 71,4 e 71,3% dos homens e das mulheres, respectivamente.

A hormonioterapia foi realizada em 44,1% dos homens e 47,8% das mulheres, porém esta diferença não se mostrou significativa (P=0,70).

Tabela 8 – Variáveis relacionadas ao tratamento realizado

Variável	Categoria	Masculino	Feminino	Total	P
Cirurgia da mama	Mastectomia	29 (82,9%)	49 (46,2%)	78 (55,3%)	<0,01
	Quadrantectomia	0 (0,0%)	39 (36,8%)	39 (27,7%)	
	Não realizada	6 (17,1%)	18 (17,0%)	24 (17,0%)	
Cirurgia da Axila	Esvaziamento	27 (77,1%)	71 (67,0%)	98 (69,5%)	0,37
	Linfonodo sentinela	2 (5,7%)	15 (14,2%)	17 (12,1%)	
	Não realizada	6 (17,1%)	20 (18,9%)	26 (18,4%)	
Quimioterapia	Não realizada	9 (25,7%)	33 (27,3%)	42 (26,9%)	0,85
	Realizada	26 (74,3%)	88 (72,7%)	114 (73,1%)	
Radioterapia	Não realizada	10 (28,6%)	39 (28,7%)	49 (28,7%)	0,99
	Realizada	25 (71,4%)	97 (71,3%)	122 (71,3%)	
Hormonioterapia	Não realizada	19 (55,9%)	71 (52,2%)	90 (52,9%)	0,70
	Realizada	15 (44,1%)	65 (47,8%)	80 (47,1%)	

Em relação aos dados patológicos, o tipo histológico predominante foi o carcinoma ductal infiltrativo em ambos os sexos, correspondendo a 93,2% nos

homens e 84,6% nas mulheres. O carcinoma lobular foi menos comum nos homens (4,5%), do que nas mulheres (11,8%), no entanto estas diferenças em relação ao tipo histológico não foram significativas (P=0,33). A maioria dos tumores eram graus 1 e 2 histológicos (77,5% nos homens e 71,2% nas mulheres) e o grau 3 histológico correspondeu a 22,5% nos homens e 28,8% nas mulheres. A embolização linfática foi positiva em 53,7% dos homens e 43,0% das mulheres. A embolização sanguínea e invasão perineural em 12,2% e 17,1% dos homens e 19,0% e 14,1% das mulheres, respectivamente. Estas diferenças não foram estatisticamente significativas.

Tabela 9 – Variáveis anatomopatológicas

Variável	Categoria	Masculino	Feminino	Total	P
Tipo histológico	Ductal	41 (93,2%)	115 (84,6%)	156 (86,7%)	0,33
	Lobular	2 (4,5%)	16 (11,8%)	18 (10,0%)	
	Outros	1 (2,3%)	5 (3,7%)	6 (3,3%)	
Grau histológico	1 e 2	31 (77,5%)	89 (71,2%)	120 (72,7%)	0,43
	3	9 (22,5%)	36 (28,8%)	45 (27,3%)	
Embolização linfática	Não detectada	19 (46,3%)	69 (57,0%)	88 (54,3%)	0,23
	Presente	22 (53,7%)	52 (43,0%)	74 (45,7%)	
Embolização sanguínea	Não detectada	36 (87,8%)	98 (81,0%)	134 (82,7%)	0,31
	Presente	5 (12,2%)	23 (19,0%)	28 (17,3%)	
Invasão perineural	Não detectada	34 (82,9%)	103 (85,1%)	137 (84,6%)	0,73
	Presente	7 (17,1%)	18 (14,9%)	25 (15,4%)	

Em relação à expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica, o receptor de estrógeno foi expresso em 89,7% dos homens e 73,3% das mulheres com câncer de mama, sendo esta diferença estatisticamente, significante (P=0,03). O receptor de progesterona foi diferente estatisticamente, entre os grupos (P<0,01), sendo mais frequente nos homens (87,2%). A proteína p53 foi diferente entre os grupos (57,6% nos homens e 31,8% nas mulheres) (P<0,01).

Em relação aos receptores de andrógenos, nos homens a positividade foi de 65,7% e nas mulheres foi de 33,9% (P<0,01).

O HER2 foi expresso em 8 casos do sexo masculino (21,6%) e 29 do sexo feminino (26,6%), sem diferença significante (P=0,54).

O proto-oncogene bcl-2 foi positivo em 78,4% dos casos masculinos e 56,1% das casos femininos, sendo esta diferença estatisticamente, significante (P=0,01). A ciclina D1 foi positiva em 97,1% dos homens e 54,7% das mulheres (P<0,01).

O ki-67 foi negativo em 52,6% dos casos masculinos e 62,5% dos femininos, e esta diferença não foi significativa (P=0,27).

A análise comparativa das citoqueratinas (CK) mostrou que as CK 6, 8 e 18 positivas foram encontradas com maior frequência nos homens e as CK 5, 14 e 17 nas mulheres. A CK 5 foi positiva em 2,6% dos homens e 21,1% das mulheres, sendo esta diferença significativa (P<0,01). Em relação às outras CK não houve diferença significante.

Tabela 10 – Expressão de marcadores pela técnica imuno-histoquímica

Variável	Categoria	Masculino	Feminino	Total	P
Bcl-2	Positivo	29 (78,4%)	60 (56,1%)	89 (61,8%)	0,01
	Negativo	8 (21,6%)	47 (43,9%)	55 (38,2%)	
HER2	Positivo	8 (21,6%)	29 (26,6%)	37 (25,3%)	0,54
	Negativo	29 (78,4%)	80 (73,4%)	109 (74,7%)	
Receptor de estrógeno	Positivo	35 (89,7%)	88 (73,3%)	123 (77,4%)	0,03
	Negativo	4 (10,3%)	32 (26,7%)	36 (22,6%)	
Receptor de progesterona	Positivo	34 (87,2%)	73 (60,8%)	107 (67,3%)	<0,01
	Negativo	5 (12,8%)	47 (39,2%)	52 (32,7%)	
P53	Positivo	19 (57,6%)	34 (31,8%)	53 (37,9%)	0,01
	Negativo	14 (42,4%)	73 (68,2%)	87 (62,1%)	
Citoqueratina 5	Positivo	1 (2,6%)	23 (21,1%)	24 (16,3%)	<0,01
	Negativo	37 (97,4%)	86 (78,9%)	123 (83,7%)	
Citoqueratina 6	Positivo	4 (10,8%)	7 (6,1%)	11 (7,3%)	0,46
	Negativo	33 (89,2%)	107 (93,9%)	140 (92,7%)	
Citoqueratina 8	Positivo	37 (100%)	106 (98,1%)	143 (98,6%)	1,00
	Negativo	0 (0%)	2 (1,9%)	2 (1,4%)	
Citoqueratina 14	Positivo	0 (0,0%)	18 (16,1%)	18 (12,4%)	0,01
	Negativo	33 (100%)	94 (83,9%)	127 (87,6%)	
Citoqueratina 17	Positivo	3 (9,1%)	23 (20,9%)	26 (18,2%)	0,12
	Negativo	30 (90,9%)	87 (79,1%)	117 (81,8%)	
Citoqueratina 18	Positivo	35 (97,2%)	103 (92,8%)	138 (93,9%)	0,45
	Negativo	1 (2,8%)	8 (7,2%)	9 (6,1%)	
Receptor de andrógeno	Positivo	23 (65,7%)	38 (33,9%)	61 (41,5%)	<0,01
	Negativo	12 (34,3%)	74 (66,1%)	86 (58,5%)	
Ciclina D1	Positivo	33 (97,1%)	58 (54,7%)	91 (65,0%)	<0,01
	Negativo	1 (2,9%)	48 (45,3%)	49 (35,0%)	
Ki-67	Até 10%	20 (52,6%)	75 (62,5%)	95 (60,1%)	0,27
	> 10%	18 (47,4%)	45 (37,5%)	63 (39,9%)	

A tabela 11 mostra os resultados em relação aos subtipos moleculares avaliados pela técnica imuno-histoquímica nos homens e nas mulheres, respectivamente: *basal-like* 8,1 e 6,9%, luminal A 67,6 e 55,9%, luminal B 21,6 e 20,6%, HER2 superexpresso 0 e 7,8% e não classificável 2,7 e 8,8%. Estas diferenças não foram significativas (P=0,28).

Tabela 11 – Variáveis relacionadas à caracterização dos subtipos moleculares avaliados pela técnica imuno-histoquímica

Variável	Masculino	Feminino	Total	P
Luminal A	25 (67,6%)	57 (55,9%)	82 (59,0%)	0,28
Luminal B	8 (21,6%)	21 (20,6%)	29 (20,9%)	
HER2 superexpresso	0 (0,0%)	8 (7,8%)	8 (5,8%)	
Basal-like	3 (8,1%)	7 (6,9%)	10 (7,2%)	
Não classificável	1 (2,7%)	9 (8,8%)	10 (7,2%)	

Nos homens, 4 casos (10,3%) e nas mulheres 17 casos (14,9%) eram RE, RP e HER2 negativos (triplo negativo), não havendo diferença estatisticamente, significante (P=0,46).

No luminal A 59,1% dos homens e 44,6% das mulheres apresentavam linfonodos axilares positivos, e no luminal B 85,7 e 38,1% dos homens e mulheres, respectivamente.

A comparação entre os gêneros dos marcadores expressos pela imuno-histoquímica no luminal A mostrou que o RA, a ciclina D1 e o p53 estavam positivos em maior frequência nos homens e estas diferenças em relação às mulheres foram significativas, conforme demonstrado na tabela 12.

Tabela 12 – Comparação entre os marcadores expressos pela técnica imuno-histoquímica no subtipo luminal A de acordo com o gênero

Variável	Categoria	Luminal A		
		Masculino	Feminino	P
Receptor de andrógeno	Positivo	16 (69,6%)	22 (40,0%)	0,01
	Negativo	7 (30,4%)	33 (60,0%)	
Bcl-2	Positivo	22 (88,0%)	38 (70,4%)	0,08
	Negativo	3 (12,0%)	16 (29,6%)	
Ciclina D1	Positivo	21 (95,5%)	37 (68,5%)	0,01
	Negativo	1 (4,5%)	17 (31,5%)	
P53	Positivo	13 (61,9%)	15 (27,8%)	<0,01
	Negativo	8 (38,1%)	39 (72,2%)	
Ki-67	Até 10%	14 (56,0%)	34 (60,7%)	0,69
	> 10%	11 (44,0%)	22 (39,3%)	

Nos luminais B, não houve diferenças significativas em relação à expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica nos sexos

masculino e feminino, no entanto houve maior positividade do RA, bcl-2, ciclina D1 e p53 nos homens.

Tabela 13 – Comparação entre os marcadores expressos pela técnica imuno-histoquímica no subtipo luminal B de acordo com o gênero

Variável	Categoria	Luminal B		
		Masculino	Feminino	P
Receptor de andrógeno	Positivo	5 (62,5%)	9 (42,9%)	0,42
	Negativo	3 (37,5%)	12 (57,1%)	
Bcl-2	Positivo	6 (75,0%)	13 (61,9%)	0,67
	Negativo	2 (25,0%)	8 (38,1%)	
Ciclina D1	Positivo	8 (100,0%)	13 (65,0%)	0,07
	Negativo	0 (0,0%)	7 (35,0%)	
P53	Positivo	5 (62,5%)	4 (19,0%)	0,06
	Negativo	3 (37,5%)	17 (81,0%)	
Ki-67	Até 10%	3 (37,5%)	11 (52,4%)	0,68
	> 10%	5 (62,5%)	10 (47,6%)	

Nos sexos masculino e feminino o RA foi mais frequente no luminal A, e menos frequente no *basal-like*. No subtipo HER2 superexpresso, no sexo feminino, 75% dos casos apresentaram RA negativo. A análise dos RA em relação aos subtipos moleculares não mostrou diferenças significativas de acordo com o gênero.

Tabela 14 – Correlação entre os receptores de andrógeno com os subtipos moleculares avaliados pela técnica imuno-histoquímica, de acordo com o gênero

Variável	Masculino			Feminino		
	RA +	RA -	P	RA +	RA -	P
Luminal A	16 (69,6%)	7 (30,4%)	0,93	22 (40,0%)	33 (60,0%)	0,16
Luminal B	5 (62,5%)	3 (37,5%)		9 (42,9%)	12 (57,1%)	
Basal-like	2 (66,7%)	1 (33,3%)		0 (0,0%)	7 (100,0%)	
HER2 superexpresso	0 (0,0%)	0 (0,0%)		2 (25,0%)	6 (75,0%)	

4.3. Análises de sobrevida

4.3.1. Seguimento

Dos pacientes do sexo masculino, apenas 1 caso foi perdido de seguimento, 28 estavam vivos (63,6%), sendo 22 sem doença e 6 com doença, e 15 (34,1%) morreram por câncer. Nas pacientes do sexo feminino, nenhum caso perdeu o seguimento, 83 estavam vivas (61,5%), sendo a maioria sem doença, e 52 (38,5%) haviam morrido por câncer.

A recorrência da doença ocorreu em 34,3% dos homens com câncer de mama e 38,8% das mulheres. Os principais sítios de metástases foram ossos e pulmões em ambos os sexos. Tiveram metástases hepáticas 2 homens e 17 mulheres, e em ambos a recidiva no plastrão foi pouco frequente.

Tabela 15 – Seguimento

Variável	Categoria	Masculino	Feminino	Total
Recorrência	Ausente	23 (65,7%)	82 (61,2%)	105 (62,1%)
	Plastrão	1 (2,9%)	9 (8,6%)	10 (7,1%)
	Fígado	2 (5,7%)	17 (16,2%)	19 (13,6%)
	Pulmão	8 (22,9%)	23 (21,9%)	31 (22,1%)
	Óssea	10 (28,6%)	27 (25,7%)	37 (26,4%)
Estado final	Morte por câncer	15 (34,1%)	52 (38,5%)	67 (37,5%)
	Vivo com doença	6 (13,6%)	14 (10,4%)	20 (11,2%)
	Vivo sem doença	22 (50,0%)	69 (51,1%)	91 (50,8%)
	Perdido de seguimento	1 (2,3%)	0 (0,0%)	1 (0,5%)

4.3.2. Análises de sobrevida global do grupo todo

Na análise da sobrevida global em 5 anos, 71,8% dos pacientes estavam vivos, sendo 73,9% dos homens e 71,3% das mulheres. Esta diferença não foi significativa, estatisticamente (P=0,96).

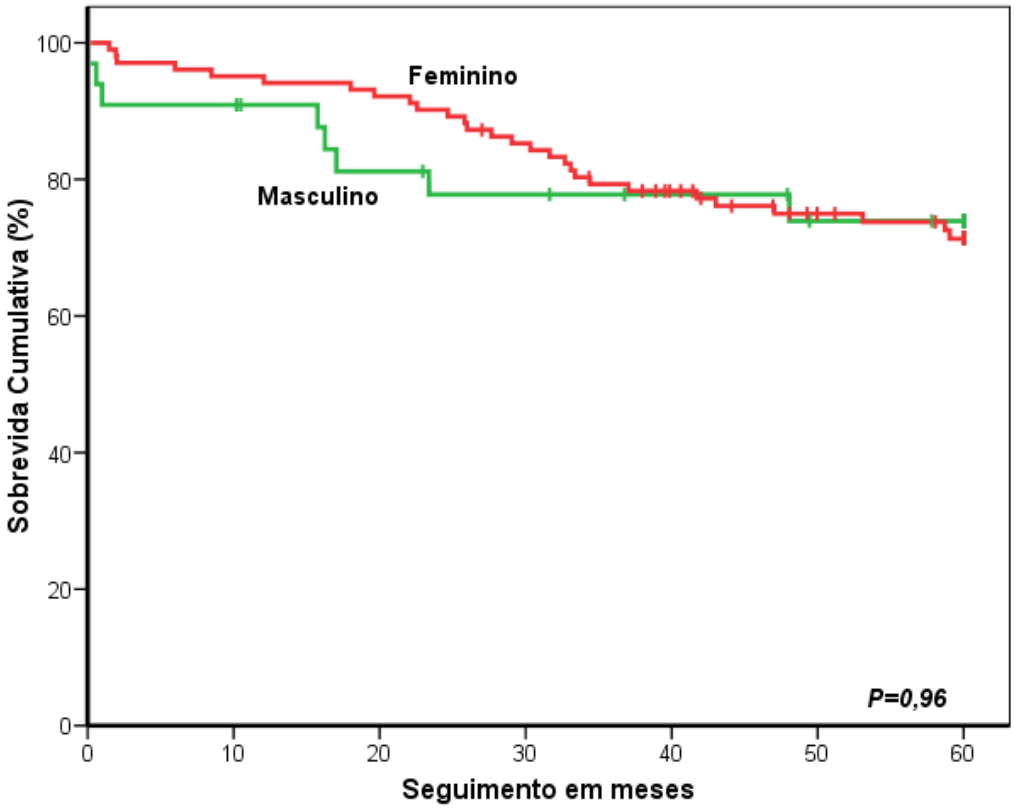


Figura 9 – Sobrevida global.

Em relação ao estádio clínico, a sobrevida global em 5 anos foi de 100% nos estádios 0 e 1, 82,5% no estádio 2, 57,9% no estádio 3 e 22,2% no estádio 4 (P<0,01). Os pacientes com linfonodos axilares negativos tiveram uma sobrevida de 84,7% e os com linfonodos positivos de 53,2% em 5 anos, também sendo esta diferença significativa, estatisticamente (P<0,01). Em relação ao tamanho do tumor, de acordo com o estadiamento (EC – T), os casos com Tis e T1 tiveram melhor sobrevida, e os tumores maiores (T3 e T4) tiveram uma menor sobrevida global.

Tabela 16 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com o estadiamento clínico (TNM / 2002) e de acordo com o gênero

Variável	Categoria	N	Sobrevida (%)	P
EC – T	Tis	5	100,0	<0,01
	T1	28	96,3	
	T2	42	82,0	
	T3	6	16,7	
	T4	53	55,0	
Estado linfonodal	N0	74	84,7	<0,01
	N+	58	53,2	
EC – TNM	0 e 1	23	100,0	<0,01
	2	50	82,5	
	3	53	57,9	
	4	9	22,2	
Sexo	Masculino	33	73,9	0,96
	Feminino	102	71,3	

Em relação ao tratamento cirúrgico realizado na mama e na axila houve diferença significativa na sobrevida, conforme demonstrado na tabela 17. Em relação à radioterapia, a sobrevida foi maior nos pacientes que realizaram este tratamento e a diferença foi significativa (P<0,01). A sobrevida também foi maior, mas não houve diferença significante, em relação ao tratamento com quimioterapia e hormonioterapia.

Tabela 17 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com o tipo de tratamento realizado

Variável	Categoria	N	Sobrevida (%)	P
Cirurgia da mama	Mastectomia	62	69,1	<0,01
	Quadrantectomia	26	100,0	
	Não realizada	11	18,2	
Cirurgia da axila	Esvaziamento	77	78,3	<0,01
	Linfonodo sentinela	9	100,0	
	Não realizada	13	10,0	
Quimioterapia	Não realizada	30	61,4	0,06
	Realizada	84	76,1	
Radioterapia	Não realizada	49	39,8	<0,01
	Realizada	121	79,0	
Hormonioterapia	Não realizada	71	69,1	0,57
	Realizada	57	74,0	

Em relação ao tipo histológico não houve diferença significante na sobrevida (P=0,94). Em relação aos graus histológicos 1 e 2, a sobrevida global em 5 anos foi de 71,3% e para o grau 3 foi 74,9%, também não havendo diferença significante (P=0,71). Os pacientes com embolizações linfática e sanguínea não detectadas tiveram uma sobrevida em 5 anos de 87,3% e 77,1% respectivamente, e com embolizações presentes uma sobrevida de 54,3% e 37% (P<0,01). Em relação à invasão perineural, a diferença não foi significativa estatisticamente (P=0,67).

Tabela 18 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com as variáveis anatomopatológicas

Variável	Categoria	N	Sobrevida (%)	P
Tipo histológico	Ductal	115	71,3	0,94
	Lobular	15	72,0	
	Outros	5	80,0	
Grau histológico	1 e 2	88	71,3	0,71
	3	33	74,9	
Embolização	Não detectada	69	87,3	<0,01
linfática	Presente	51	54,3	
Embolização	Não detectada	108	77,1	<0,01
sanguinea	Presente	12	37,0	
Invasão	Não detectada	100	74,2	0,67
perineural	Presente	20	69,2	

A sobrevida global em 5 anos em relação à expressão do ki-67 foi de 81,2% para os pacientes com índice de proliferação até 10%, e 58,4% para os pacientes com índices maiores do que 10%, sendo esta diferença significativa (P<0,01).

De acordo com a expressão dos outros marcadores pela técnica de imuno-histoquímica não houve diferença significativa na sobrevida global, conforme demonstrado na tabela 19.

Tabela 19 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com a expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica

Variável	Categoria	N	Sobrevida (%)	P
Receptor de estrógeno	Positivo	91	74,2	0,68
	Negativo	24	79,2	
Receptor de progesterona	Positivo	77	72,4	0,35
	Negativo	38	81,1	
Receptor de andrógeno	Positivo	43	68,7	0,45
	Negativo	65	74,2	
HER2	Positivo	25	73,5	0,80
	Negativo	82	71,0	
P53	Positivo	40	75,4	0,49
	Negativo	64	68,5	
Bcl-2	Positivo	62	76,1	0,22
	Negativo	44	66,7	
Ciclina D1	Positivo	70	71,7	0,88
	Negativo	35	70,7	
Ki-67	Até 10%	78	81,2	<0,01
	> 10%	41	58,4	
Citoqueratina 5	Positivo	13	68,4	0,74
	Negativo	97	71,8	
Citoqueratina 6	Positivo	10	70,0	0,65
	Negativo	102	74,1	
Citoqueratina 8	Positivo	105	70,1	0,40
	Negativo	2	100,0	
Citoqueratina 14	Positivo	11	90,9	0,18
	Negativo	97	69,9	
Citoqueratina 17	Positivo	14	78,6	0,64
	Negativo	92	70,1	
Citoqueratina 18	Positivo	102	73,3	0,40
	Negativo	7	53,6	

Analisando a sobrevida global de acordo com os subtipos moleculares, não houve diferença significativa na sobrevida global (P=0,96).

Tabela 20 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com os subtipos moleculares caracterizados pela técnica imuno-histoquímica

Variável	N	Sobrevida (%)	P
Luminal A	63	72,7	0,96
Luminal B	22	75,2	
Basal-like	6	66,7	
HER2 superexpresso	5	80,0	
Não classificável	9	77,8	

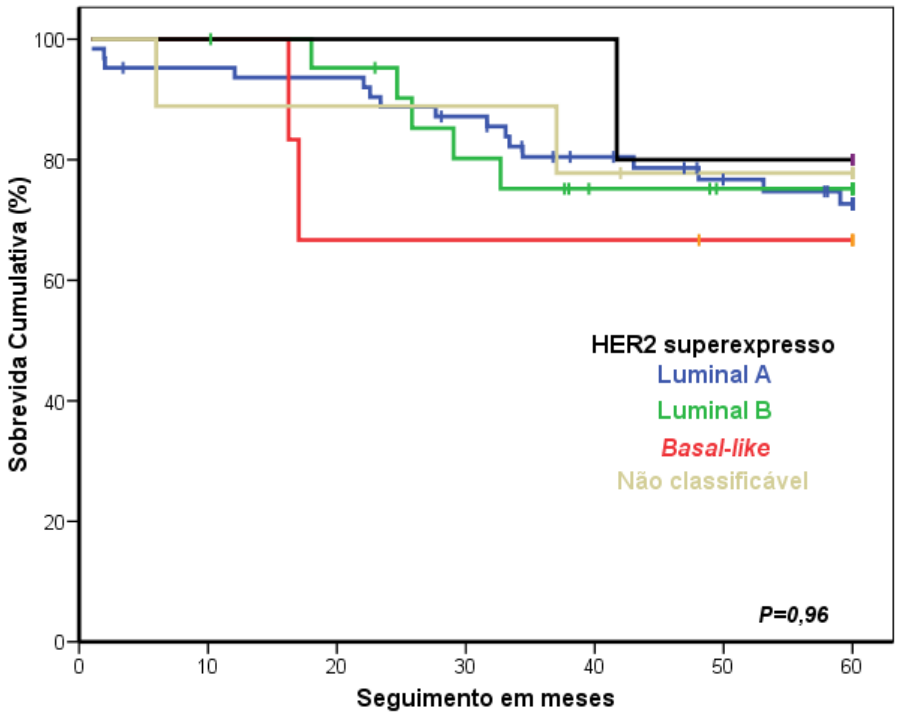


Figura 10 – Sobrevida global de acordo com os subtipos moleculares.

4.3.3. Análises de sobrevida global de acordo com o gênero

Na análise da sobrevida global de acordo com o gênero, em relação ao estádio clínico, 100% dos homens nos estádios 0 e 1 estavam vivos em 5 anos, e nas mulheres 90,9%. Nos homens nos estádios 2, 3 e 4, estavam vivos em 5 anos 71,4, 57,7 e 33,3% respectivamente (P=0,05). Nas mulheres a sobrevida nos estádios 2, 3 e 4 foi 84,5, 54,4 e 16,7%, respectivamente (P<0,01). Em relação ao EC – T, quanto maior o T, menor a sobrevida global nos dois gêneros, sendo estas diferenças significativas no sexo feminino (P<0,01).

Tabela 21 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com o estadiamento clínico (TNM / 2002) e gênero

Variável	Categoria	Masculino			Feminino		
		N	Sobrevida (%)	P	N	Sobrevida (%)	P
EC – T	Tis	1	100,0	0,07	4	100,0	<0,01
	T1	11	100,0		17	94,1	
	T2	7	66,7		35	84,5	
	T3	1	0,0		5	20,0	
	T4	12	45,7		41	41,8	
Estado linfonodal	N0	12	83,3	0,21	62	84,9	<0,01
	N+	18	61,7		40	51,0	
EC – TNM	0 e 1	7	100,0	0,05	16	90,9	<0,01
	2	9	71,4		41	84,5	
	3	14	57,7		39	54,4	
	4	3	33,3		6	16,7	

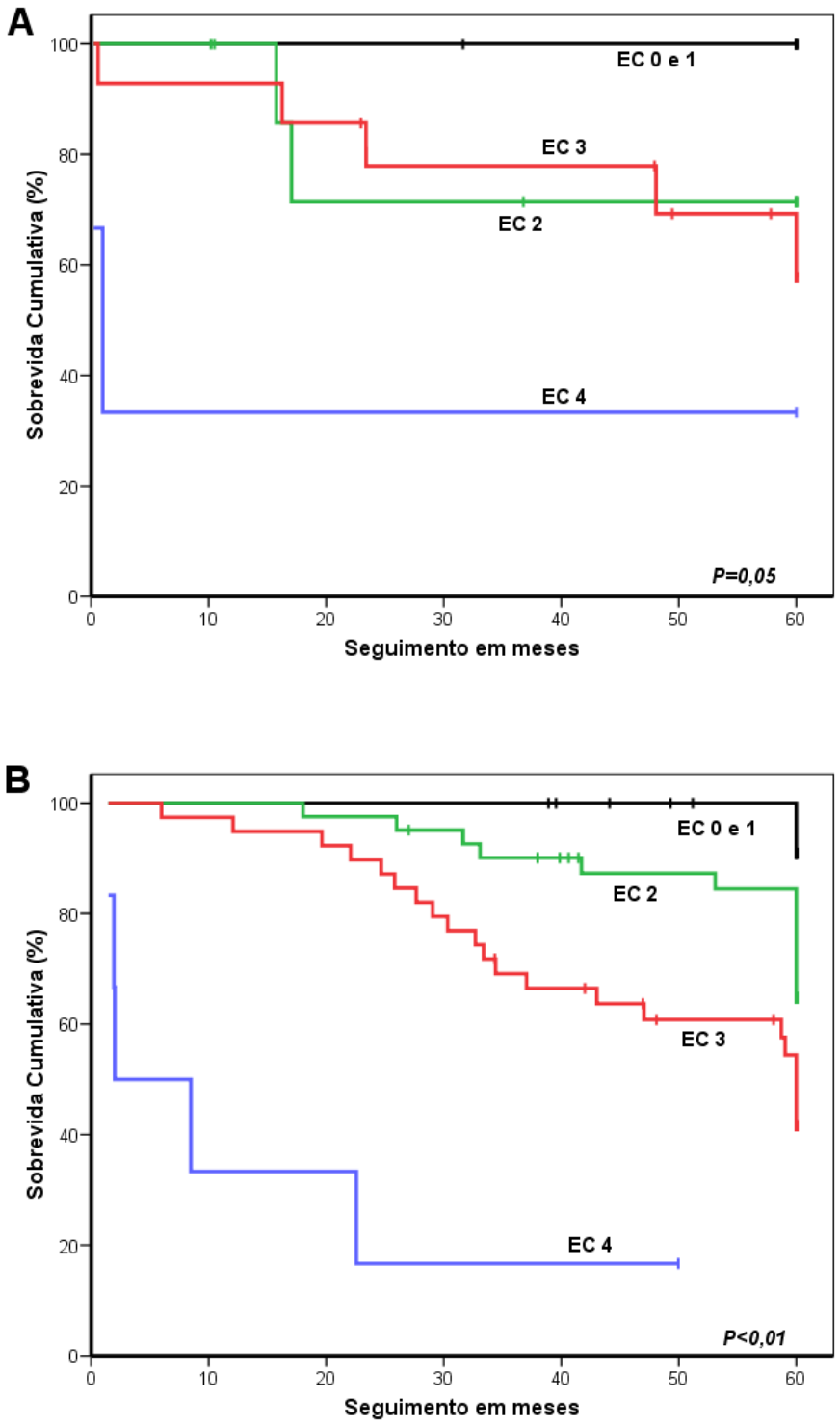


Figura 11 – Sobrevida global de acordo com o estádio clínico e gênero. (A) Masculino (B) Feminino.

Em relação aos linfonodos axilares, nos homens com linfonodos negativos a sobrevida em 5 anos foi de 83,3% e com linfonodos positivos, 61,7%. Em relação às mulheres, 84,9% com linfonodos negativos e 51% com linfonodos positivos estavam vivas em 5 anos. Houve diferença significativa no grupo das mulheres (P<0,01).

Das pacientes do sexo feminino que não apresentavam massa palpável ao diagnóstico, a sobrevida em 5 anos foi de 100%, enquanto que das mulheres que tinham massa palpável 62,7% estavam vivas em 5 anos, sendo esta diferença significativa (P<0,01). Todos os pacientes do sexo masculino apresentavam massa palpável no momento do diagnóstico.

Considerando-se a presença ou ausência de comorbidades no diagnóstico, não houve diferença significativa na sobrevida nos sexos masculino (P=0,78) e feminino (P=0,44).

Em relação ao tratamento cirúrgico realizado na mama e na axila houve diferença significativa na sobrevida. No sexo masculino não foi realizada quadrantectomia, mas no sexo feminino, as mulheres que foram submetidas ao tratamento cirúrgico conservador da mama tiveram melhor sobrevida (P<0,01).

Os pacientes que foram submetidos à linfonodo sentinela na axila também tiveram melhor sobrevida nos dois grupos.

Em relação à radioterapia, a sobrevida foi maior nos pacientes que realizaram este tratamento e a diferença foi significativa em ambos os sexos

(P<0,01). Não houve diferença significante na sobrevida em relação ao tratamento com quimioterapia e hormonioterapia.

Tabela 22 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com o tipo de tratamento realizado e gênero

Variável	Categoria	Masculino			Feminino		
		N	Sobrevida (%)	P	N	Sobrevida (%)	P
Cirurgia da mama	Mastectomia	29	81,8	<0,01	39	62,7	0,01
	Quadrantectomia	0	-		48	97,4	
	Não realizada	6	0,0		18	18,8	
Cirurgia da axila	Esvaziamento	27	80,7	<0,01	70	76,1	<0,01
	Linfonodo sentinela	2	100,0		15	100,0	
	Não realizada	6	0,0		20	15,7	
Quimioterapia	Não realizada	9	64,8	0,60	33	51,5	0,18
	Realizada	26	68,4		87	73,4	
Radioterapia	Não realizada	10	37,5	<0,01	39	41,8	<0,01
	Realizada	25	79,7		96	78,8	
Hormonioterapia	Não realizada	19	61,2	0,33	70	63,2	0,29
	Realizada	15	72,7		65	74,0	

Em relação aos tipos e graus histológicos, não houve diferença significativa entre os grupos. Nos homens com embolização linfática presente 61,4% estavam vivos em 5 anos e nos casos onde a embolização linfática não foi detectada 88,9% (P=0,09). Nas mulheres sem embolização linfática 86,9% estavam vivas em 5 anos, e nas com embolização, a sobrevida foi de 47,3%

(P<0,01). Em relação à embolização sanguínea e invasão perineural houve diferença significativa na sobrevida no sexo feminino.

Tabela 23 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com as variáveis anatomopatológicas e gênero

Variável	Categoria	Masculino			Feminino		
		N	Sobrevida (%)	P	N	Sobrevida (%)	P
Tipo histológico	Ductal	30	66,8	0,60	85	71,5	0,58
	Lobular	2	100,0		13	68,4	
	Outros	1	100,0		4	75,0	
Grau histológico	1 e 2	24	72,7	0,70	64	71,1	0,30
	3	5	60,0		28	69,4	
Embolização	Não detectada	13	88,9	0,09	56	86,9	<0,01
linfática	Presente	17	61,4		34	47,3	
Embolização	Não detectada	28	71,8	0,54	80	77,3	<0,01
sanguínea	Presente	2	100,0		10	30,0	
Invasão	Não detectada	24	64,9	0,12	52	75,1	0,02
perineural	Presente	6	100,0		5	56,3	

Em relação aos receptores de estrógeno, quando positivos, a sobrevida em 5 anos nos homens foi de 81,5%, enquanto naqueles com receptores negativos foi de 25%, sendo esta diferença significativa (P=0,01). Nas mulheres, a diferença na sobrevida em relação aos receptores de estrógeno não foi significativa (P=0,47). Em relação aos pacientes com receptores de progesterona positivos, 80,5% dos homens e 69,4% das mulheres estavam

vivos em 5 anos. As diferenças em relação a este receptor não foram significativas.

Em relação ao bcl-2, se positivo, a sobrevida em 60 meses foi de 77%, e se negativo 60%. A ciclina D1 positiva teve uma sobrevida em 5 anos de 69,9%. O p53 se positivo ou negativo teve uma sobrevida de 74,9 e 62,5%, respectivamente. No sexo feminino, em relação ao bcl-2, se positivo, a sobrevida em 60 meses foi de 72,6%, e se negativo, 68%. A ciclina D1 positiva teve uma sobrevida em 5 anos de 69,6%. O p53 se positivo ou negativo na mulher teve uma sobrevida de 69,7 e 69,5%, respectivamente. Não houve diferença significativa em relação a estes marcadores, em ambos os sexos.

Considerando-se o ki-67 no sexo masculino, a sobrevida em 5 anos foi de 79,4% para os pacientes com índice de proliferação até 10%, e 53,7% para os pacientes com índices maiores de 10%. Esta diferença não foi significativa (P=0,27). No sexo feminino 81,7% com ki-67 até 10% e 54,5% com índice de proliferação maior do que 10% estavam vivos em 5 anos, sendo esta diferença significante (P=0,02).

Em relação às citoqueratinas, houve diferença significativa na sobrevida nos pacientes do sexo masculino que tinham as CK 5 e 17 positivas.

Em relação ao HER2, a sobrevida foi de 63,5% para as mulheres com este receptor positivo e 69,6% com receptor negativo (P=0,73). Nos homens a sobrevida foi de 100 e 68,9% para HER2 positivo e negativo respectivamente, não sendo esta diferença significante (P=0,27).

Tabela 24 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com a expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica e gênero

Variável	Categoria	Masculino			Feminino		
		N	Sobrevida (%)	P	N	Sobrevida (%)	P
Receptor de estrógeno	Positivo	24	81,5	0,01	67	71,9	0,47
	Negativo	4	25,0		20	85,0	
Receptor de progesterona	Positivo	23	80,5	0,08	54	69,4	0,25
	Negativo	5	40,0		33	84,2	
Receptor de andrógeno	Positivo	15	71,1	0,92	28	58,3	0,66
	Negativo	9	72,9		56	74,6	
HER2	Positivo	5	100,0	0,27	20	63,5	0,73
	Negativo	21	68,9		61	69,6	
P53	Positivo	15	74,9	0,46	25	69,7	0,78
	Negativo	8	62,5		56	69,5	
Bcl-2	Positivo	20	77,0	0,24	42	72,6	0,45
	Negativo	6	60,0		38	68,0	
Ciclina D1	Positivo	23	69,9	0,55	47	69,6	0,87
	Negativo	1	100,0		34	69,8	
Ki-67	Até 10%	16	79,4	0,27	62	81,7	0,02
	> 10%	11	53,7		30	54,5	
Citoqueratina 5	Positivo	1	0,0	0,03	12	74,1	0,37
	Negativo	26	73,4		71	69,6	
Citoqueratina 6	Positivo	4	50,0	0,26	6	66,7	0,85
	Negativo	22	79,5		80	72,9	
Citoqueratina 8	Positivo	26	69,2	-	79	68,8	0,27
	Negativo	0	-		2	100,0	
Citoqueratina 14	Positivo	0	-	-	11	90,9	0,39
	Negativo	23	69,0		74	68,3	
Citoqueratina 17	Positivo	1	0,0	0,01	13	75,2	0,22
	Negativo	22	72,3		70	67,6	
Citoqueratina 18	Positivo	25	72,1	-	77	72,1	0,33
	Negativo	0	-		7	35,7	

Na análise da sobrevida global de acordo com os subtipos moleculares específicos caracterizados pela técnica imuno-histoquímica, houve diferença significativa no subtipo *basal-like* no sexo masculino, quando comparado com os pacientes do mesmo gênero que não expressaram este fenótipo. Em relação aos outros subtipos não foram encontradas diferenças significativas (Tabela 25).

Tabela 25 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com os subtipos moleculares específicos caracterizados pela técnica imuno-histoquímica e gênero*

Variável	Categoria	Masculino			Feminino		
		N	Sobrevida (%)	P	N	Sobrevida (%)	P
Luminal A	Sim	17	79,9	0,26	45	69,5	0,25
	Não	12	54,5		47	77,7	
Luminal B	Sim	7	100,0	0,16	15	66,7	0,97
	Não	23	65,9		80	74,7	
Basal-like	Sim	3	0,0	<0,01	3	50,0	0,80
	Não	28	83,6		92	72,4	
HER2	Sim	0	-	-	5	60,0	0,91
superexpresso	Não	31	73,2		92	73,6	

* devido ao pequeno número de casos considerados não classificáveis, os mesmos não foram incluídos na análise da sobrevida global de acordo com o gênero.

Quando classificados pelos fenótipos, a sobrevida global em 5 anos no sexo masculino foi de 79,9% no subtipo luminal A, 100,0% no luminal B e 0,0% no *basal-like*, sendo esta diferença significativa (P<0,01). No sexo feminino, a sobrevida global foi de 69,5% no subtipo luminal A, 66,7% no luminal B, 50,0% no *basal-like* e 60,0% no HER2 superexpresso, não sendo esta diferença significativa (P=0,94) (Tabela 26).

Tabela 26 – Sobrevida global aos 60 meses de acordo com os subtipos moleculares caracterizados pela técnica imuno-histoquímica e gênero*

Variável	Masculino			Feminino		
	N	Sobrevida (%)	P	N	Sobrevida (%)	P
Luminal A	17	79,9	<0,01	45	69,5	0,94
Luminal B	7	100,0		15	66,7	
Basal-like	3	0,0		3	50,0	
HER2 superexpresso	0	-		5	60,0	

* devido ao pequeno número de casos considerados não classificáveis, os mesmos não foram incluídos na análise da sobrevida global de acordo com o gênero.

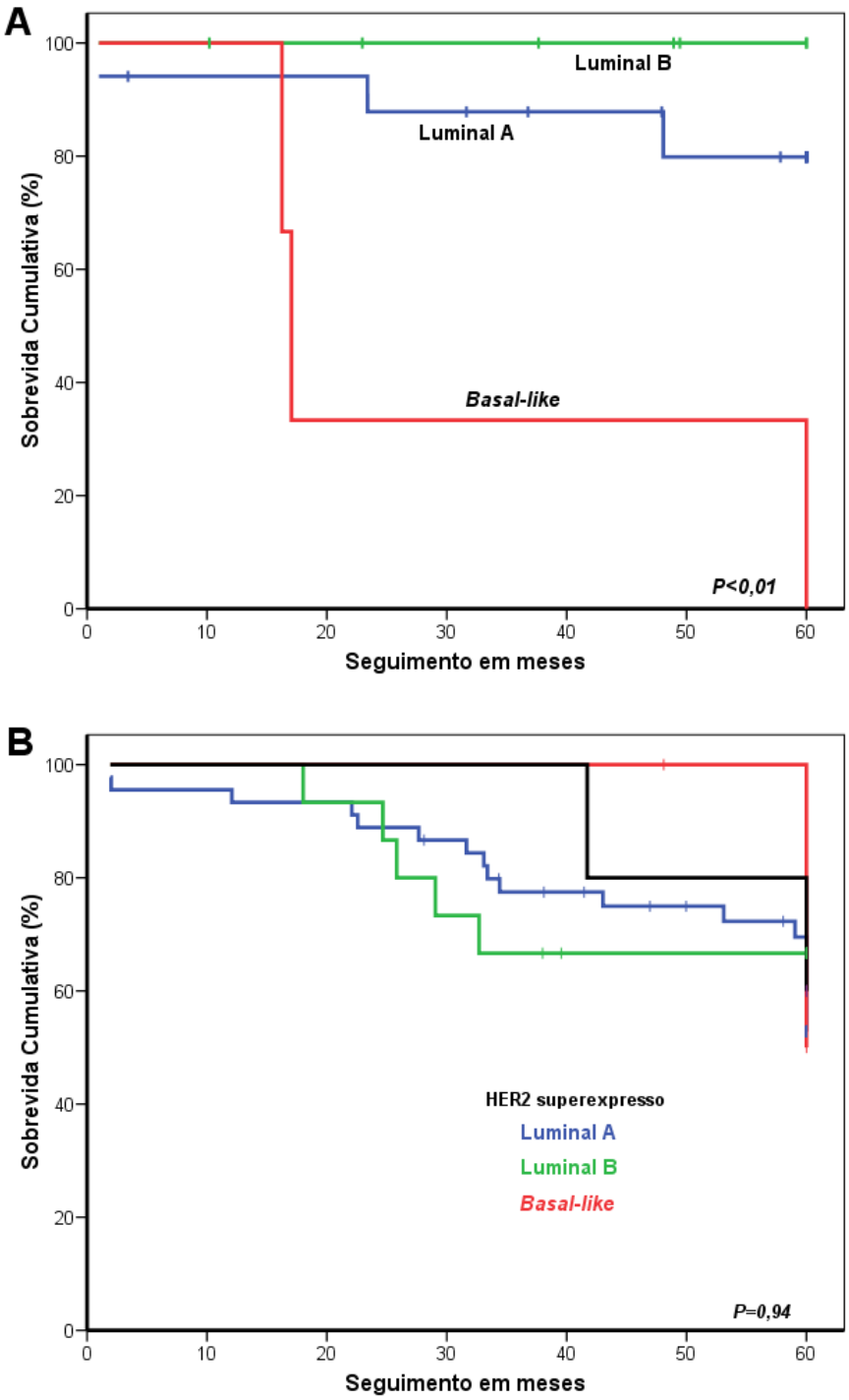


Figura 12 – Sobrevida global de acordo com os subtipos moleculares e gênero. (A) Masculino (B) Feminino.

4.3.4. Análises de sobrevida global estratificadas por gênero

Na comparação do sexo masculino com o feminino, de acordo com o estádio clínico T foi realizado um agrupamento em 3 categorias e não foram encontradas diferenças significativas. Em relação ao estádio clínico e estado linfonodal, também não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes, conforme demonstrado na tabela 27.

Tabela 27 – Sobrevida global aos 60 meses estratificada de acordo com o estadiamento clínico (TNM / 2002) e gênero

Variável	Categoria	Masculino		Feminino		P
		N	Sobrevida (%)	N	Sobrevida (%)	
EC – T	Tis e T1	12	100,0	21	95,2	0,46
	T2	7	66,7	35	84,5	0,18
	T3 e T4	13	51,9	46	50,4	0,75
Estado linfonodal	N0	12	83,3	62	84,9	0,80
	N+	18	61,7	40	51,0	0,81
EC – TNM	0 e 1	7	100,0	16	100,0	1,00
	2	9	71,4	41	84,5	0,25
	3	14	57,7	39	54,4	0,49
	4	3	33,3	6	16,7	0,77

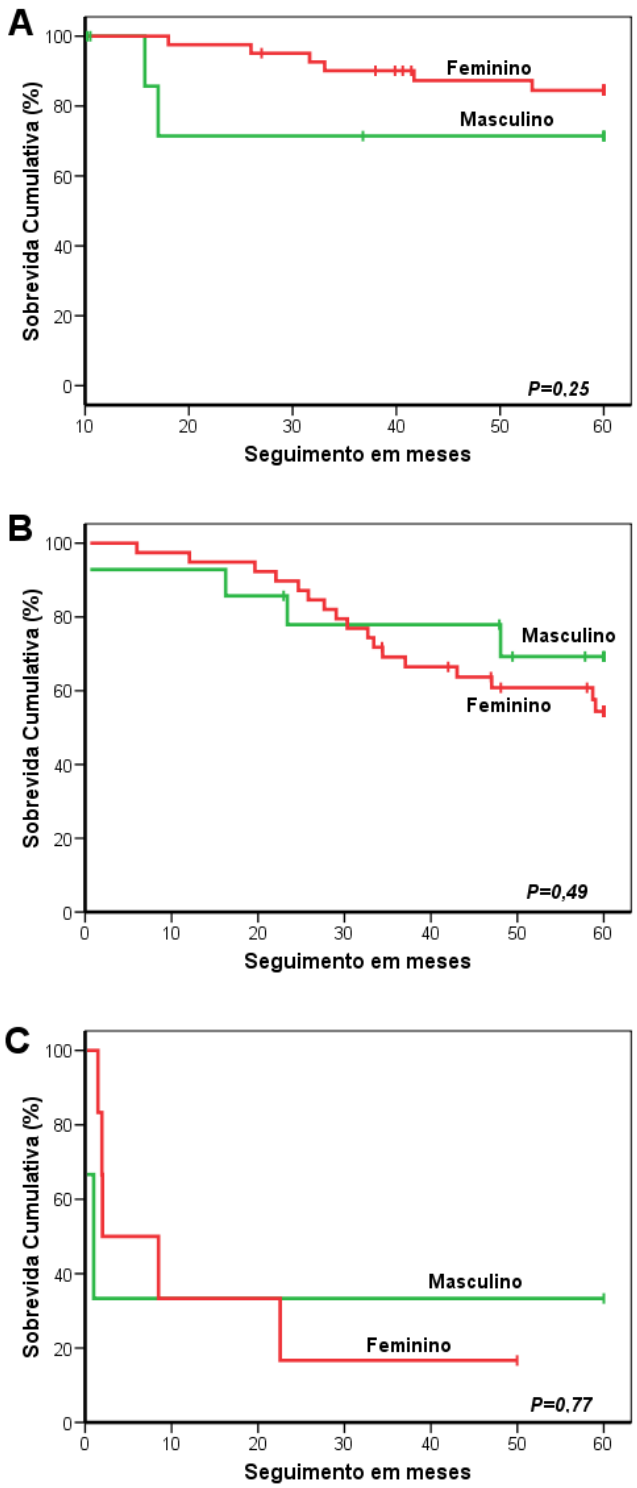


Figura 13 – Sobrevida global estratificada de acordo com o estádio clínico e gênero. (A) Estádio clínico 2 (B) Estádio clínico 3 (C) Estádio clínico 4.

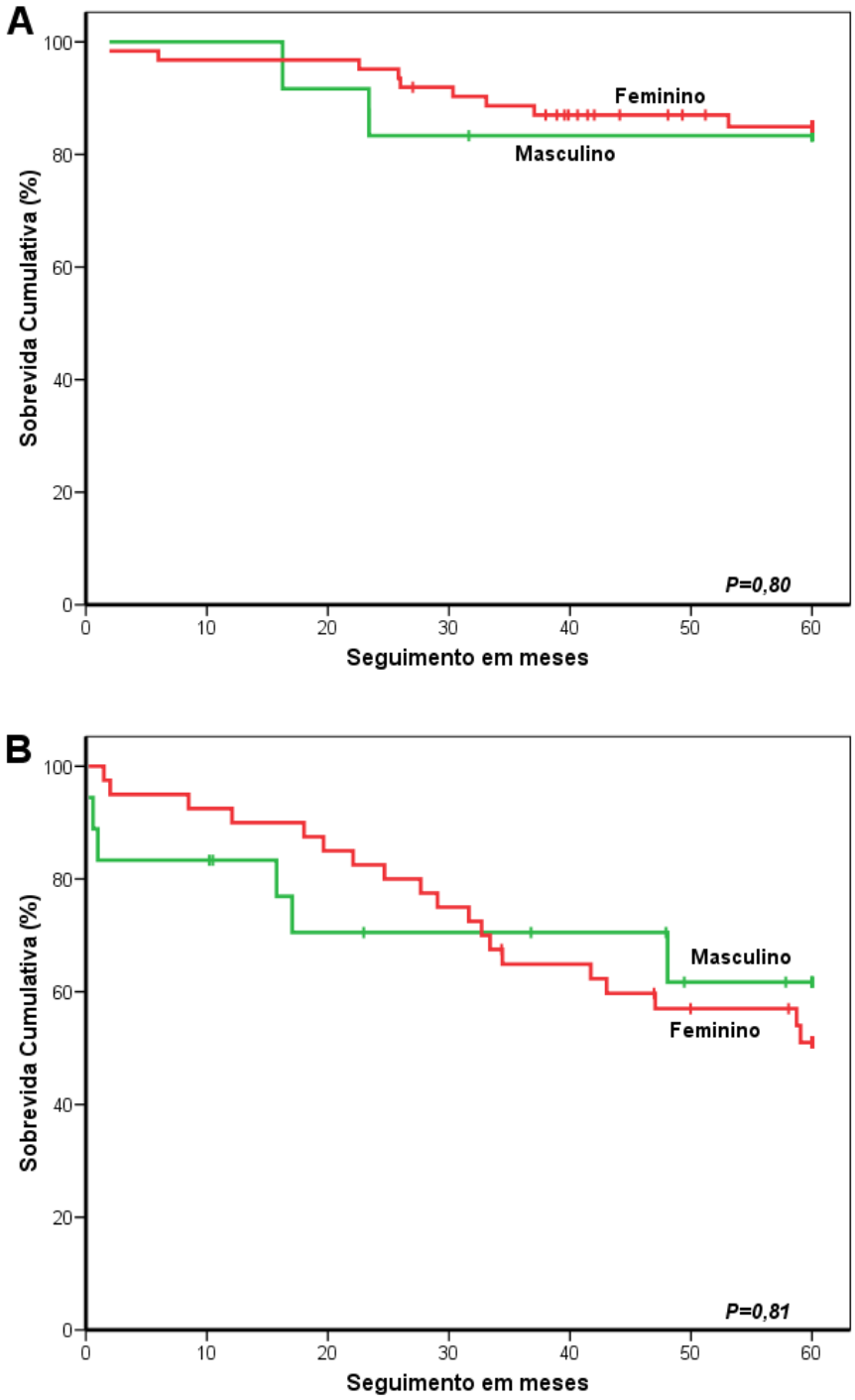


Figura 14 – Sobrevida global de acordo com o estado linfonodal e gênero. (A) Linfonodo negativo – N0 (B) Linfonodo positivo – N1.

No sexo masculino, a sobrevida em 5 anos foi de 71,1% com os receptores de andrógeno positivos e no sexo feminino, a sobrevida foi de 58,3%, não havendo diferença significativa (P=0,47).

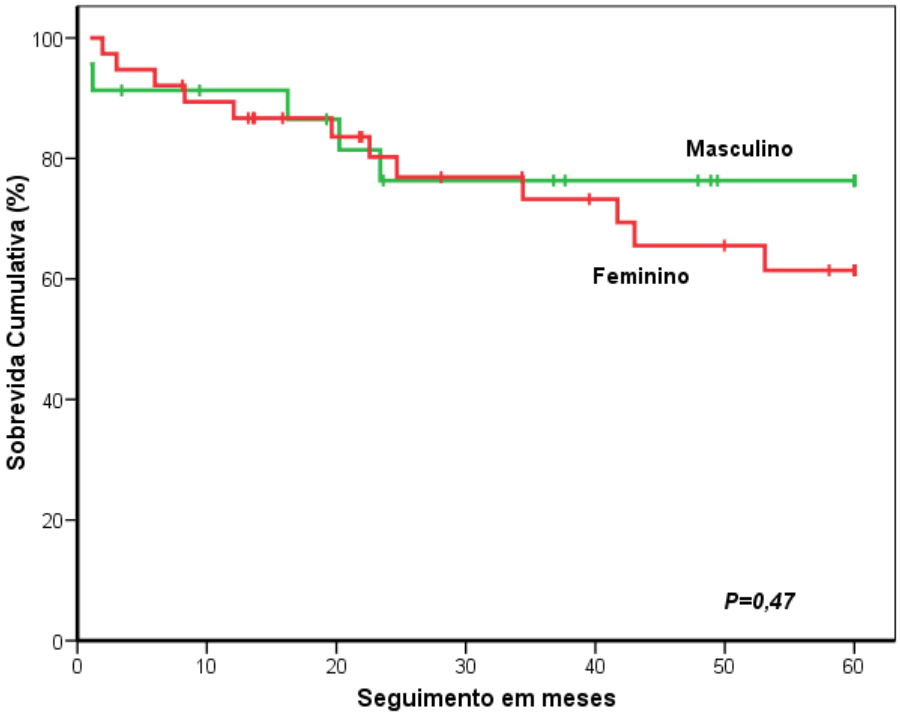


Figura 15 – Sobrevida global estratificada de acordo com o receptor de andrógeno e gênero.

Comparando-se o luminal A nos sexos masculino e feminino a sobrevida global foi de 79,9 e 69,5% respectivamente, e esta diferença não foi significativa (P=0,47). A comparação no luminal B em relação aos gêneros também não mostrou diferença significativa na sobrevida global em 5 anos (P=0,15), no entanto foi melhor no sexo masculino.

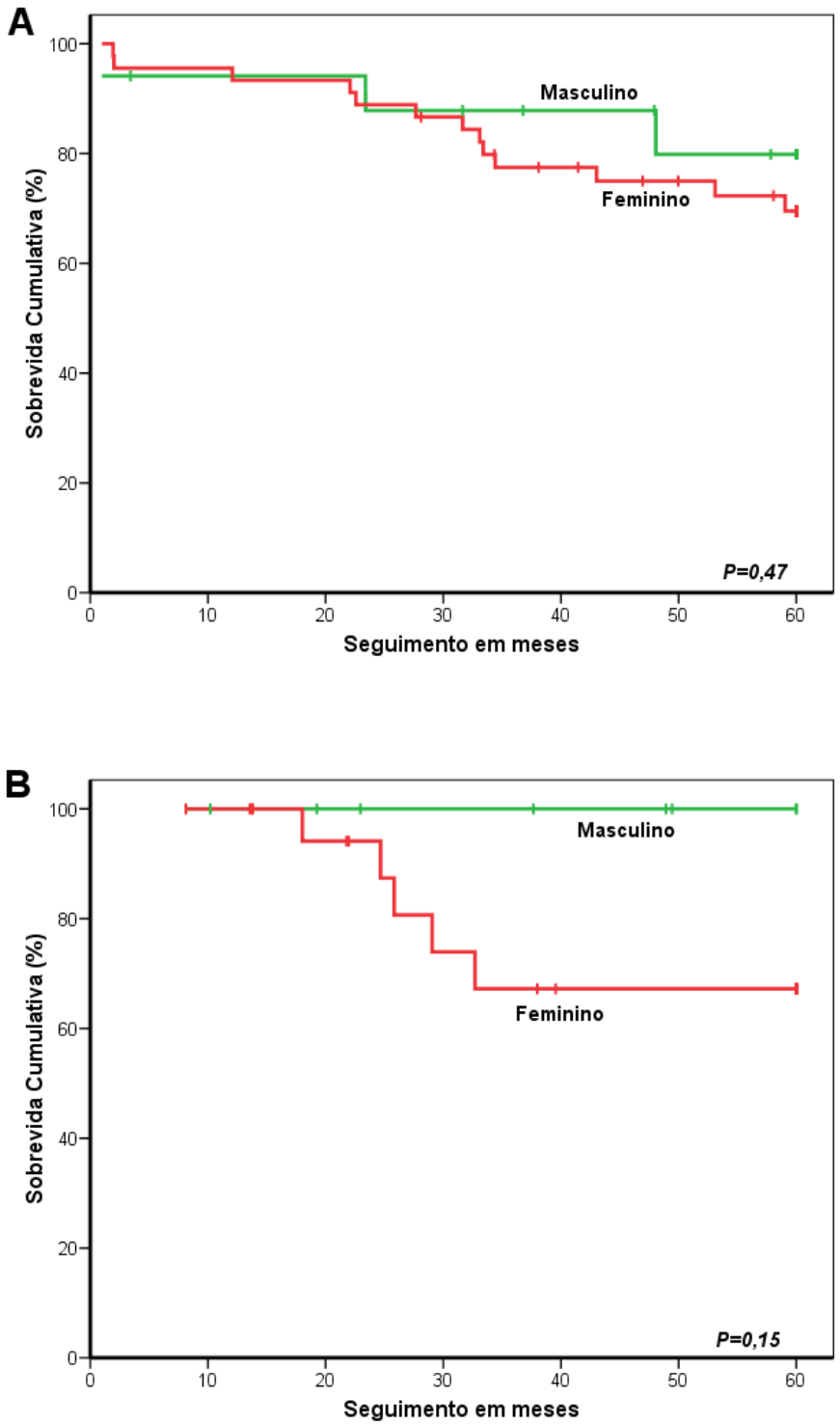


Figura 16 – Sobrevida global estratificada de acordo com o subtipo molecular e gênero. (A) Luminal A (B) Luminal B.

4.3.5. Análises de sobrevida livre de doença do grupo todo

A sobrevida livre de doença aos 60 meses não mostrou diferença significativa entre os gêneros (P=0,46); no entanto esta diferença foi significativa em relação ao estadiamento clínico (P<0,01).

Tabela 28 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com as variáveis clínicas

Variável		N	SLD (%)	P
EC – T	Tis	5	100,0	<0,01
	T1	28	96,4	
	T2	42	82,0	
	T3	3	33,3	
	T4	48	58,7	
Estado linfonodal	N0	72	87,3	<0,01
	N+	52	57,6	
EC – TNM	0 e 1	23	100,0	<0,01
	2	50	82,5	
	3	52	59,8	
Sexo	Masculino	30	81,6	0,46
	Feminino	97	74,4	

De acordo com o tratamento cirúrgico realizado na mama e na axila e em relação à radioterapia, houve diferença significativa na sobrevida livre de

doença (P<0,01). Em relação ao tratamento com quimioterapia e hormonioterapia não houve diferença significativa.

Tabela 29 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com o tipo de tratamento realizado

Variável	Categoria	N	SLD (%)	P
Cirurgia da mama	Mastectomia	62	10,0	<0,01
	Quadrantectomia	26	100,0	
	Não realizada	9	69,2	
Cirurgia da axila	Esvaziamento	77	78,1	<0,01
	Linfonodo sentinela	9	100,0	
	Não realizada	13	8,3	
Quimioterapia	Não realizada	30	63,2	0,10
	Realizada	84	76,0	
Radioterapia	Não realizada	30	46,8	<0,01
	Realizada	97	78,8	
Hormonioterapia	Não realizada	71	69,6	0,67
	Realizada	57	74,3	

Em relação aos tipos e graus histológicos e invasão perineural, não houve diferença significativa na sobrevida livre de doença. Nos grupos onde as embolizações linfáticas e sanguíneas não foram detectadas, a sobrevida livre de doença foi maior em relação ao grupo onde estas embolizações estavam presentes, e estas diferenças foram significativas (Tabela 30).

Tabela 30 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com as variáveis anatomopatológicas

Variável	Categoria	N	SLD (%)	P
Tipo histológico	Ductal	110	75,1	0,89
	Lobular	12	82,5	
	Outros	5	80,0	
Grau histológico	1 e 2	83	74,6	0,71
	3	32	77,7	
Embolização	Não detectada	67	90,5	<0,01
linfática	Presente	48	55,9	
Embolização	Não detectada	107	78,4	0,04
sanguínea	Presente	8	42,9	
Invasão	Não detectada	97	75,8	0,88
perineural	Presente	18	77,8	

Em relação à sobrevida livre de doença de acordo com os marcadores expressos pela técnica imuno-histoquímica, houve diferença significativa em relação à expressão do ki-67, que apresentou pior sobrevida livre de doença quando o índice de proliferação estava maior do que 10%. Em relação aos outros marcadores, não houve diferença significativa na sobrevida livre de doença (Tabela 31).

Tabela 31 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com a expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica

Variável	Categoria	N	SLD (%)	P
Receptor de estrógeno	Positivo	86	77,9	0,88
	Negativo	24	78,9	
Receptor de progesterona	Positivo	72	76,5	0,53
	Negativo	38	81,2	
Receptor de andrógeno	Positivo	39	73,8	0,74
	Negativo	64	75,2	
HER2	Positivo	25	74,2	0,96
	Negativo	77	74,3	
P53	Positivo	37	79,9	0,31
	Negativo	62	70,0	
Bcl-2	Positivo	57	81,5	0,08
	Negativo	44	66,5	
Ciclina D1	Positivo	65	76,1	0,77
	Negativo	35	70,8	
Ki-67	Até 10%	76	83,2	<0,01
	> 10%	38	62,0	
Citoqueratina 5	Positivo	12	74,1	0,86
	Negativo	93	74,2	
Citoqueratina 6	Positivo	9	66,7	0,39
	Negativo	99	76,6	
Citoqueratina 8	Positivo	100	72,8	0,42
	Negativo	2	100,0	
Citoqueratina 14	Positivo	10	90,0	0,26
	Negativo	93	73,0	
Citoqueratina 17	Positivo	13	84,6	0,36
	Negativo	88	72,4	
Citoqueratina 18	Positivo	97	76,2	0,33
	Negativo	7	57,1	

A sobrevida livre de doença em 5 anos não mostrou diferença significativa em relação aos subtipos moleculares (Tabela 32).

Tabela 32 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com os subtipos moleculares caracterizados pela técnica imuno-histoquímica

Variável	N	SLD (%)	P
Luminal A	59	56,4	0,72
Luminal B	19	60,0	
Basal-like	4	75,0	
HER2 superexpresso	5	80,0	
Não classificável	9	78,8	

4.3.6. Análises de sobrevida livre de doença de acordo com o gênero

Quando estratificada, houve diferença significante na sobrevida livre de doença no sexo feminino, em função do estádio clínico e estado linfonodal.

Em relação ao estádio clínico, 100% dos homens nos estádios 0 e 1 não tiveram recaída da doença nos primeiros 5 anos, e nos estádios 2 e 3 a sobrevida livre de doença foi de 71,4 e 74,6%, respectivamente (P=0,37). Nas mulheres, a sobrevida livre de doença foi de 92,9% no estádio clínico 0 e 1, 77% no estádio 2 e 45,4% no estádio 3 (P<0,01).

Em relação aos linfonodos axilares, nos homens com linfonodos negativos, a sobrevida livre de doença em 5 anos foi de 83,3% e com

linfonodos positivos 74,1%, e esta diferença não foi significativa (P=0,67). Em relação às mulheres, 84,8% com linfonodos negativos e 36,7% com linfonodos positivos estavam livres de metástases ou recidivas em 5 anos, sendo esta diferença significante (P<0,01).

Tabela 33 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com o estadiamento clínico (TNM / 2002) e gênero

Variável	Categoria	Masculino			Feminino		
		N	SLD (%)	P	N	SLD (%)	P
EC – T	Tis	1	100,0	0,13	4	100,0	0,03
	T1	11	100,0		17	75,6	
	T2	7	66,7		35	82,1	
	T3	1	0,0		2	50,0	
	T4	9	76,2		39	45,4	
Estado linfonodal	N0	12	83,3	0,67	60	84,8	<0,01
	N+	15	74,1		37	36,7	
EC – TNM	0 e 1	7	100,0	0,37	16	92,9	<0,01
	2	9	71,4		41	77,0	
	3	13	74,6		39	45,4	

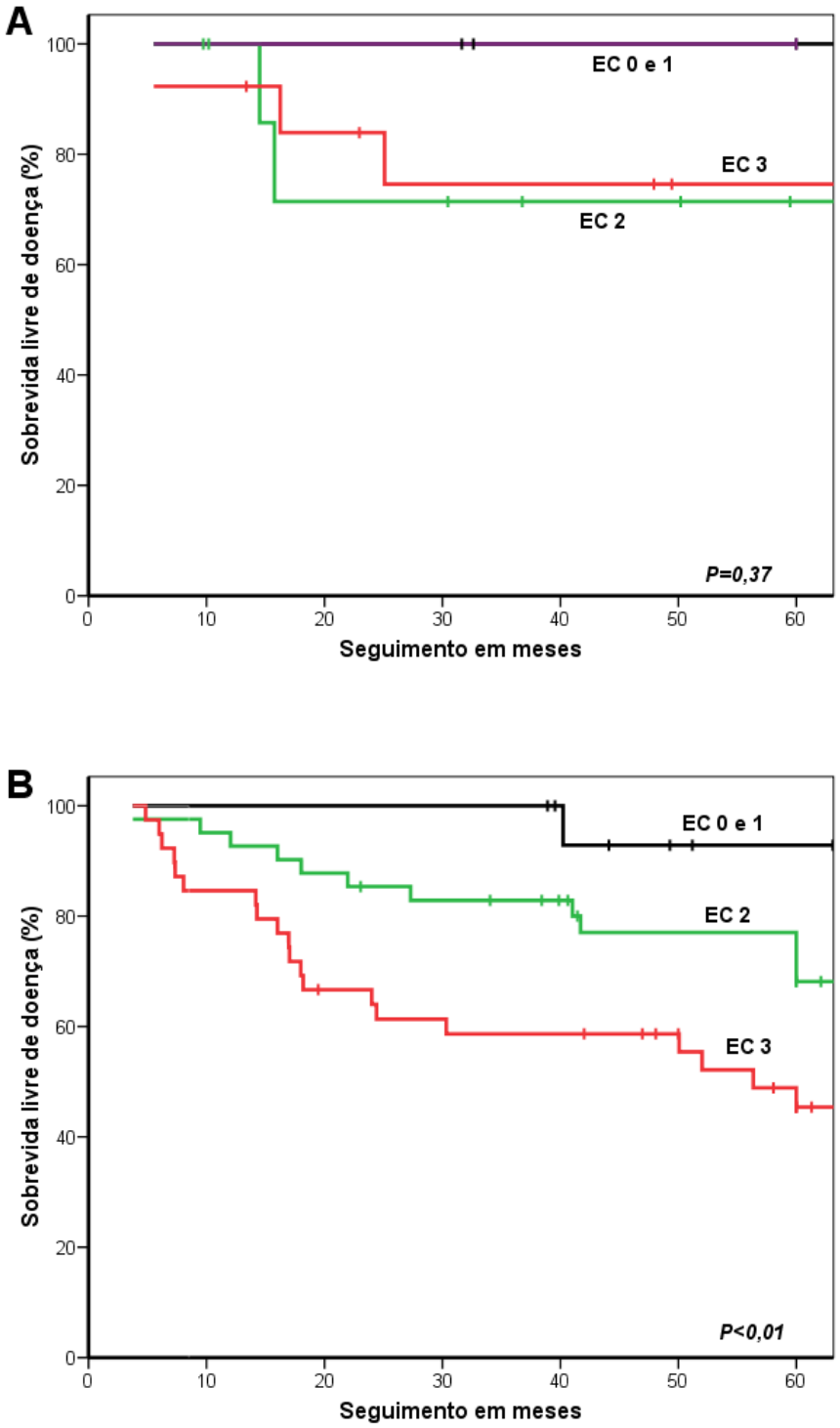
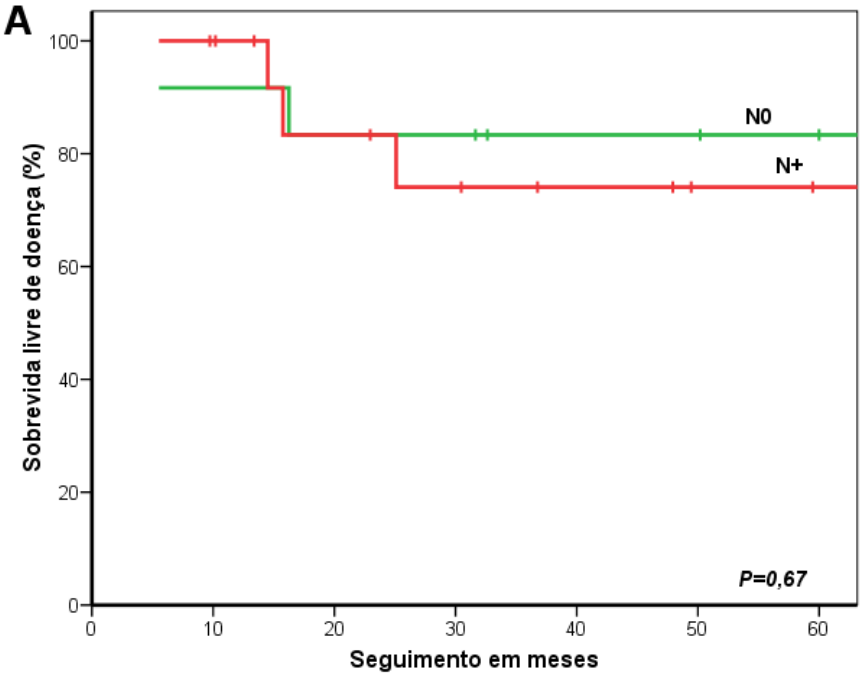


Figura 17 – Sobrevida livre de doença de acordo com o estádio clínico e gênero. (A) Masculino (B) Feminino.



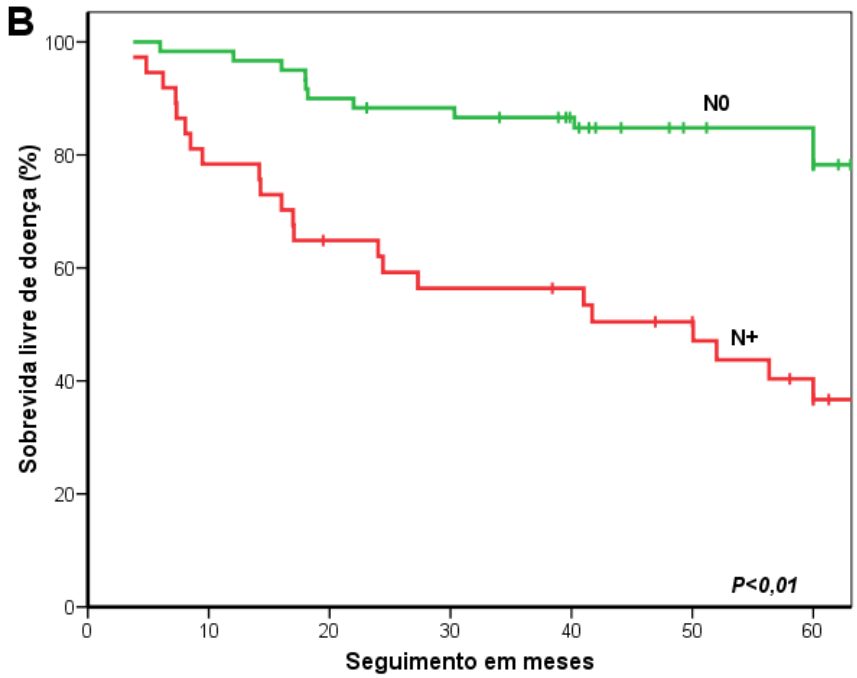


Figura 18 – Sobrevida livre de doença de acordo com o estado linfonodal e gênero. (A) Masculino (B) Feminino.

Em relação ao tratamento cirúrgico realizado na mama e na axila houve diferença significativa na sobrevida livre de doença no sexo feminino (P<0,01). Em relação ao tratamento com quimioterapia, radioterapia e hormonioterapia não houve diferença significativa em nenhum dos gêneros.

Tabela 34 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com o tipo de tratamento realizado e gênero

Variável	Categoria	Masculino			Feminino		
		N	SLD (%)	P	N	SLD (%)	P
Cirurgia da mama	Mastectomia	24	56,6	-	38	55,5	<0,01
	Quadrantectomia	0	0,0		26	91,6	
	Não realizada	3	100,0		8	0,0	
Cirurgia da axila	Esvaziamento	23	55,6	-	54	68,0	<0,01
	Linfonodo sentinela	1	100,0		8	100,0	
	Não realizada	3	100,0		10	0,0	
Quimioterapia	Não realizada	6	100,0	0,11	24	70,3	0,71
	Realizada	21	47,5		63	65,5	
Radioterapia	Não realizada	5	100,0	0,33	25	50,0	0,10
	Realizada	22	53,2		77	69,3	
Hormonioterapia	Não realizada	17	53,0	0,95	57	74,1	0,09
	Realizada	9	62,2		48	54,6	

De acordo com as variáveis anatomopatológicas, houve diferença significativa na sobrevida livre de doença no sexo feminino em relação às

embolizações linfáticas e sanguíneas (P<0,01). Em relação aos tipos e graus histológicos e invasão perineural não houve diferenças significativas.

No sexo masculino não foram encontradas diferenças significativas na sobrevida livre de doença em relação às variáveis anatomopatológicas.

Tabela 35 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com as variáveis anatomopatológicas e gênero

Variável	Categoria	Masculino			Feminino		
		N	SLD (%)	P	N	SLD (%)	P
Tipo histológico	Ductal	27	80,0	0,79	83	67,2	0,81
	Lobular	2	100,0		10	68,6	
	Outros	1	100,0		4	75,0	
Grau histológico	1 e 2	22	80,0	0,39	61	64,1	0,19
	3	5	80,0		27	72,7	
Embolização	Não detectada	13	90,9	0,11	54	86,7	<0,01
linfática	Presente	16	72,1		32	37,1	
Embolização	Não detectada	27	80,0	0,61	80	72,4	<0,01
sanguínea	Presente	2	100,0		6	0,0	
Invasão	Não detectada	23	75,2	0,17	23	70,4	0,06
perineural	Presente	6	100,0		7	55,6	

No sexo masculino, a relação da sobrevida livre de doença com a expressão do receptor de estrógeno e citoqueratinas 5 e 17 mostrou diferenças significativas (P<0,01).

Nos casos onde o receptor de estrógeno foi positivo e as citoqueratinas 5 e 17 negativas a sobrevida livre de doença foi maior. O bcl-2, receptores de progesterona e andrógeno quando positivos, estavam relacionados com maior sobrevida livre de doença, no entanto as diferenças não foram significativas. Em relação aos outros marcadores também não houve diferença significativa.

No sexo feminino, houve melhor sobrevida livre de doença e esta diferença foi significativa quando o ki-67 estava positivo em até 10% das células tumorais (P=0,01). O bcl-2 e o p53 quando positivos estavam relacionados com melhor sobrevida livre de doença, e em relação aos outros marcadores, não houve diferença significativa.

A sobrevida livre de doença de acordo com a expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica e gênero estão demonstradas na tabela 36.

A sobrevida livre de doença em 5 anos foi melhor nos homens com os subtipos moleculares luminal A e luminal B e pior no subtipo *basal-like*. Nas mulheres, a sobrevida livre de doença foi de 56,8% no subtipo luminal A, 60,0% no luminal B, 80,0% no HER2 superexpresso e 100,0% no *basal-like*. A diferença foi significativa quando foi comparada a sobrevida livre de doença nas mulheres no subtipo luminal A (P=0,04). (Tabela 37).

Tabela 36 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com a expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica e gênero

Variável	Categoria	Masculino			Feminino		
		N	SLD (%)	P	N	SLD (%)	P
Receptor de estrógeno	Positivo	23	85,8	0,01	63	68,2	0,59
	Negativo	4	50,0		20	80,0	
Receptor de progesterona	Positivo	22	85,1	0,06	50	66,9	0,32
	Negativo	5	60,0		33	77,5	
Receptor de andrógeno	Positivo	14	85,7	0,49	25	67,2	0,86
	Negativo	9	68,6		55	66,5	
HER2	Positivo	5	100,0	0,34	20	64,2	0,82
	Negativo	20	79,2		57	63,2	
P53	Positivo	14	92,9	0,08	23	61,1	0,92
	Negativo	8	57,1		54	62,3	
Bcl-2	Positivo	19	89,2	0,20	38	71,9	0,28
	Negativo	6	60,0		38	53,9	
Ciclina D1	Positivo	22	80,1	0,52	43	64,0	0,79
	Negativo	1	100,0		34	66,7	
Ki-67	Até 10%	16	78,6	0,56	60	75,3	0,01
	> 10%	10	80,0		28	55,9	
Citoqueratina 5	Positivo	1	0,0	<0,01	11	80,8	0,14
	Negativo	25	82,7		68	63,7	
Citoqueratina 6	Positivo	4	50,0	0,32	5	60,0	0,58
	Negativo	21	84,3		78	68,0	
Citoqueratina 8	Positivo	25	78,3	-	75	64,2	0,30
	Negativo	0	-		2	100,0	
Citoqueratina 14	Positivo	0	-	-	10	65,6	0,53
	Negativo	22	80,1		71	65,4	
Citoqueratina 17	Positivo	1	0,0	<0,01	12	81,5	0,10
	Negativo	21	84,3		67	59,5	
Citoqueratina 18	Positivo	24	81,9	-	73	65,7	0,33
	Negativo	0	-		7	38,1	

Tabela 37 – Sobrevida livre de doença aos 60 meses de acordo com os subtipos moleculares caracterizados pela técnica imuno-histoquímica e gênero*

Variável	Categoria	Masculino			Feminino		
		N	SLD (%)	P	N	SLD (%)	P
Luminal A	Sim	14	54,7	0,80	45	56,8	0,04
	Não	7	55,6		47	76,1	
Luminal B	Sim	4	50,0	0,78	15	60,0	0,58
	Não	18	58,7		80	66,2	
Basal-like	Sim	1	0,0	0,02	3	100,0	0,25
	Não	22	57,0		92	64,0	
HER2	Sim	0	-	-	5	80,0	0,48
superexpresso	Não	23	54,2		92	65,1	

* devido ao pequeno número de casos considerados não classificáveis, os mesmos não foram incluídos na análise da sobrevida livre de doença de acordo com o gênero.

4.4. Análise multivariada (Cox)

Na análise multivariada do grupo todo consideramos o estádio, a idade e as variáveis relacionadas ao tratamento para verificar se o gênero seria um fator prognóstico. Neste modelo, o risco de óbito foi maior nos estádios 3 e 4, e a hormonioterapia reduziu o risco de óbito. A radioterapia, a quimioterapia e a idade não foram determinantes do óbito. A conclusão final é que o gênero não foi um fator prognóstico nesta amostra.

Tabela 38 – Modelo multivariado proposto para avaliar o gênero como possível fator prognóstico

Variável	Categoria	N	HR	IC 95%	P
Gênero	Masculino	26	1,0	Referência	
	Feminino	72	1,2	0,4 – 3,1	0,77
Estádio clínico	0 / 1 / 2	56	1,0	Referência	
	3 / 4	42	4,6	1,4 – 13,9	0,01
Quimioterapia	Não	22	1,0	Referência	
	Sim	76	0,5	0,2 – 1,3	0,14
Radioterapia adjuvante	Não	20	1,0	Referência	
	Sim	78	0,7	0,2 – 2,4	0,56
Hormonioterapia	Não	51	1,0	Referência	
	Sim	47	0,3	0,1 – 0,8	0,01
Idade	(variável contínua)	98	1,03	0,9 – 1,1	0,18

HR *Hazard ratio*
IC 95% Intervalo de confiança de 95%

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

Existem poucos dados na literatura em relação ao câncer de mama masculino devido à raridade desta patologia. Comparando com o carcinoma de mama em mulheres há pouca informação a respeito do mecanismo molecular envolvendo o câncer de mama masculino, mas diferenças gênicas devem existir entre eles (Pinero et al.,2010).

Avanços significativos na prevenção, detecção precoce e tratamento do câncer de mama feminino têm contribuído para um declínio da incidência e para uma melhora da qualidade de vida das pacientes. Similarmente ao que vem ocorrendo nas mulheres, a incidência do câncer de mama nos homens tem diminuído nos últimos anos, mas não está claro qual o fator que está contribuindo para a mudança neste cenário no sexo masculino.

Entre os fatores de risco do câncer de mama masculino, os principais são os hormonais e os relacionados à história familiar de câncer de mama. Neste estudo, não foram identificados fatores de risco hormonais relacionados ao câncer de mama em ambos os sexos, e em relação à história familiar de câncer, foi positiva em 17,1% dos homens e 28,4% das mulheres, não sendo esta diferença significativa (P=0,17). Um estudo recente realizado por Brinton et al. (2010), mostrou que a condição mais fortemente relacionada com o risco de desenvolvimento de câncer de mama em homens foi a Síndrome de

Klinefelter (uma rara anormalidade cromossômica caracterizada pelo cariótipo 47 XXY e importantes alterações hormonais), seguida pela ginecomastia. Nas mulheres, o alto risco de desenvolvimento de câncer de mama está relacionado à mãe ou à irmã com câncer de mama na pré-menopausa, e suscetibilidade genética comprovada (mutação de BRCA 1-2). Sabe-se que a prevalência das mutações dos genes BRCA 1 e 2 nos homens é baixa, a associação entre BRCA 1 e câncer de mama masculino não é muito clara e a mutação do BRCA 2 é mais frequente em homens com câncer de mama, principalmente se relacionados com história familiar de câncer positiva (Giordano et al., 2002). Em homens com mutações do BRCA, além do aumento de risco de desenvolvimento de câncer de mama, ocorre maior risco de desenvolver câncer de próstata, pâncreas, estômago e hematológico. A contribuição das mutações nos genes BRCA 1 e BRCA 2 nos homens com câncer de mama no Brasil é pouco conhecida. Esteves et al. (2009) analisaram a prevalência das mutações dos genes BRCA 1 e BRCA 2 em famílias com médio e alto risco de câncer de mama e ovário no Brasil e encontraram mutações em BRCA 1 em dois homens com câncer de mama, no entanto outros estudos são necessários para elucidar esta questão.

No presente estudo a mediana da idade no diagnóstico nos homens foi de 61 anos, e nas mulheres foi de 57,5 anos. Como a faixa etária foi um critério utilizado para pareamento dos casos, não se encontrou diferença significante entre os gêneros, no entanto estes resultados se mostraram diferentes em

relação à literatura. Em estudo realizado por Anderson et al. (2010), através da análise do banco de dados do SEER do Instituto Nacional de Câncer dos EUA, foram encontrados nos registros 5.494 casos de câncer de mama masculinos e 835.805 casos de câncer de mama femininos, no período de 1973 a 2005; a idade média no diagnóstico foi de 65,8 anos para o sexo masculino e 61,3 anos para o feminino e a mediana foi de 67 e 61 anos para o sexo masculino e feminino, respectivamente, mostrando uma idade mais avançada ao diagnóstico no sexo masculino. Neste mesmo estudo, em relação ao tamanho do tumor, a média foi de 2,4 cm no sexo masculino e 1,6 cm no sexo feminino, mostrando diferença em relação aos resultados aqui apresentados, onde o tamanho médio do tumor foi de 4,1 e 4,5 cm nos homens e nas mulheres, respectivamente. Estas diferenças encontradas, principalmente em relação ao tamanho do tumor, podem refletir atraso no diagnóstico desta patologia nos países em desenvolvimento.

No diagnóstico, a maioria dos homens com câncer de mama apresenta massa subareolar indolor, frequentemente associada à retração mamilar, ulceração ou descarga mamilar sanguinolenta. O envolvimento bilateral é raro e estima-se que corresponda a menos de 2% dos casos. Neste estudo, 100% dos homens e 84,9% das mulheres apresentavam massa palpável, sendo esta diferença significativa (P=0,01). O que também mostrou diferença significativa foi o tempo de história da doença, sendo maior nos homens (P=0,03). A presença de massa palpável e maior tempo de história também podem

representar atraso no diagnóstico do câncer da mama masculino, e além disso a anatomia mamária no homem favorece uma invasão mais precoce das estruturas contíguas ao tumor, como a pele, a aréola, o mamilo, e o músculo peitoral (Donegan et al., 1998). Associado a isso, o rastreamento mamográfico realizado na população feminina permite a detecção de tumores em estádios clínicos inicias e um melhor prognóstico (Smith et al., 2010).

Neste estudo, os EC 0 e 1 representaram 18,6% dos casos de câncer de mama masculino, o EC 2 correspondeu a 30,2% e o EC 3 a 37,2%. Tinham doença metastática no diagnóstico 14% dos pacientes do sexo masculino. Estes resultados são comparáveis aos de mulheres com câncer de mama no Hospital de Câncer de Barretos (Mauad et al., 2007; Zucca-Matthes et al., 2009), demonstrando que o estádio clínico no diagnóstico nos homens não é mais avançado do que nas mulheres. Em relação ao estado linfonodal, a maioria dos homens apresentava linfonodos axilares positivos, e nas mulheres os linfonodos axilares estavam positivos em 42,6%. Alguns trabalhos mostram que o estádio clínico é mais avançado e a incidência de linfonodos positivos é maior nos homens com câncer de mama, em comparação às mulheres (Hill et al., 2005). No entanto, um trabalho realizado por Park et al. (2008) analisou 20 casos de câncer de mama no sexo masculino e comparou com 5229 casos de câncer de mama no sexo feminino e não encontrou diferença significante. Pinero et al. (2010) também não encontraram diferença significativa em relação

ao estádio clínico e estado linfonodal comparando 55 homens com 155 mulheres com câncer de mama.

No presente estudo encontrou-se 37,1% dos homens e 49,1% das mulheres com alguma comorbidade, e as mais frequentes nos homens e nas mulheres foram hipertensão arterial e diabetes, no entanto, estas condições clínicas não mostraram associação com estágio clínico avançado, nem influência no tratamento ou na sobrevida. Cutuli et al. (2009) em um estudo realizado em 489 homens com câncer de mama, encontraram comorbidades ou doenças crônicas em 41,7% dos casos. Estas doenças aumentavam com a idade, e as principais eram doenças cardiovasculares, diabetes, hipertensão e doenças respiratórias.

Em relação ao tratamento do câncer de mama tanto no homem, como nas mulheres, engloba a cirurgia, a quimioterapia, a radioterapia e a hormonioterapia (nos casos receptores hormonais positivos). Neste estudo, 82,9% dos homens e 46,4% das mulheres foram submetidos à mastectomia, e a cirurgia conservadora da mama foi realizada apenas nas mulheres, em 36,8% dos casos ($P<0,01$). Encontrou-se recorrência da doença em 34,3% dos homens e em 38,8% das mulheres, sendo que a recidiva local ocorreu em 2,9% no sexo masculino e 8,6% no sexo feminino. Esta diferença é explicada pela taxa de cirurgia conservadora realizada nas mulheres. Nos homens, a mastectomia é o tratamento cirúrgico padrão, no entanto a cirurgia conservadora da mama (tumorectomia, lumpectomia, quadrantectomia) tem

sido relatada em homens com estádios iniciais da doença. No estudo realizado por Cutuli et al. (2009), dos 489 casos de câncer de mama masculino, 8,6% foram submetidos à tumorectomia (lumpectomia), 76% à mastectomia radical modificada e 15,4% à mastectomia radical e, dos casos submetidos à cirurgia conservadora da mama, 5% tiveram recidiva local, enquanto no grupo submetido ao tratamento cirúrgico radical a taxa de recidiva local foi de 1,6%. Gennari et al. (2004), em uma revisão da literatura encontraram que a cirurgia conservadora é raramente realizada nos homens com câncer de mama, mas em algumas situações (idade avançada, condições clínicas precárias, obesidade) este procedimento é realizado e a radioterapia adjuvante é indicada. No entanto, falta uniformidade da literatura a respeito destas indicações, das taxas de radioterapia pós-operatória e dos resultados.

Em relação à cirurgia da axila, 77,1% dos casos de câncer de mama em homens e 67% em mulheres foram submetidos ao esvaziamento axilar. Gennari et al. (2004) concluíram que pacientes com tumores primários pequenos e sem evidências clínicas de envolvimento linfonodal, podem ser submetidos à pesquisa do linfonodo sentinela axilar. A pesquisa do linfonodo sentinela axilar, portanto, pode ser realizada em casos selecionados, diminuindo a morbidade relacionada ao esvaziamento axilar e reduzindo o custo do tratamento.

No presente estudo, a quimioterapia e a radioterapia foram realizadas em cerca de 70% dos casos de homens e de mulheres, não mostrando

diferença nestes grupos. Goss et al. (1999), analisaram os resultados de 229 casos de câncer de mama masculina tratados ao longo de 40 anos, e concluíram que apesar das mudanças no tratamento cirúrgico primário padrão e um aumento no uso de quimioterapia e hormonioterapia, não foram observadas diferenças nos resultados de acordo com as décadas do diagnóstico; no entanto, os resultados mostraram que tratamentos mais agressivos, que incluem principalmente a quimioterapia, podem ser benéficos e aumentam as taxas de sobrevida global.

Neste estudo, em relação à hormonioterapia, menos da metade dos grupos foram submetidos a esta modalidade terapêutica e isto se deve ao fato de muitos pacientes terem sido tratados antes do início do uso deste tratamento nas Instituições envolvidas. Clinicamente, para os pacientes com receptor de estrógeno e progesterona positivo, o impacto do tamoxifeno ao tratamento do câncer de mama é prolongar a sobrevida livre de doença e sobrevida global, sendo que o tamoxifeno apresenta-se como o fármaco de primeira escolha e de eficácia superior na terapia adjuvante na ausência ou dificuldade de se usar inibidor da aromatase (Fisher et al., 1998; Dunn et al., 2001). Uma das enzimas responsáveis pela metabolização do tamoxifeno é a debrisoquina hidroxilase, que faz parte do grupo das enzimas de metabolismo oxidativo mediado, e que está envolvida em diversos passos do metabolismo secundário de vários outros tipos de drogas no tecido hepático. O citocromo P450 2D6 (CYP2D6), gene que codifica a enzima debrisoquina hidroxilase,

está envolvido na produção de metabólitos muito ativos do tamoxifeno no organismo, como o 4-hidroxi-tamoxifeno e o 4-OH-N-desmetil-tamoxifeno (endoxifeno), sendo que esses metabólitos chegam a ser até 100 vezes mais ativos que o tamoxifeno (Crewe et al., 1997; Stearns et al., 2003). Estima-se que cerca de 25% de caucasianos possuam formas não funcionais de CYP2D6, causadas por alterações genotípicas neste gene, e que originam uma alteração da atividade enzimática, de baixa a ultra rápida metabolização do fármaco. A correlação entre os diferentes genótipos de outros alelos do CYP2D6, também passou a ser investigada e pacientes com alterações genotípicas apresentaram risco aumentado para recidiva em câncer de mama quando tratadas com tamoxifeno devido à baixa transformação deste fármaco em sua forma ativa endoxifeno pelo organismo. Em relação aos homens com câncer de mama, não existem trabalhos disponíveis na literatura a respeito da estimativa de polimorfismos deste gene e se isto teria impacto no tratamento e sobrevida do câncer de mama masculino, fato que pode ser avaliado em estudo posterior.

No presente estudo, o tipo histológico predominante foi o ductal em ambos os gêneros. O carcinoma lobular foi encontrado em 2 casos no sexo masculino, correspondendo a 4,5%, e nas mulheres este subtipo histológico correspondeu a 11,8%, não sendo esta diferença significativa (P=0,33). Os graus histológicos 1 e 2 corresponderam a 77,5% dos casos masculinos e 71,2% dos femininos, e a presença de embolização linfática e sanguínea e

invasão perineural não mostraram diferença significante. Em revisão da literatura realizada por Giordano et al. (2002), quase todos os subtipos histológicos de câncer de mama que têm sido descritos nas mulheres, têm sido relatados nos homens. Burga et al. (2006) em um estudo de 778 casos de câncer de mama masculino concluíram que o carcinoma invasivo da mama masculina tem uma distribuição em relação aos subtipos histológicos comparável com os encontrados nas mulheres, com exceção do carcinoma lobular que é raro nos homens. Em relação ao grau histológico, Muir et al. (2003) mostraram-no em um estudo onde 85% dos casos de câncer de mama em homens e 50% em mulheres eram grau 3. No entanto, Anderson et al. (2010) encontraram em uma análise retrospectiva alto grau histológico em cerca de 25% dos casos de câncer de mama masculinos, e na mesma proporção dos casos femininos, sendo que estes resultados são comparáveis aos do estudo atual.

Em relação à expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica, encontrou-se 89,7% dos homens com RE positivos e 87,2% com RP positivos. Nas mulheres, a positividade para RE e RP foram 73,3 e 60,8%, respectivamente. Estes dados mostraram que a porcentagem de homens com receptores hormonais positivos é significativamente maior do que nas mulheres. O HER2 foi expresso em 21,6% dos homens e 26,6% das mulheres, e apesar da menor frequência nos homens, esta diferença não foi significativa (P=0,54). A ciclina D1 foi positiva em 97,1% e 54,7% em homens e mulheres,

respectivamente (P<0,01). Encontrou-se o ki-67 elevado em 47,4% dos homens e 37,5% das mulheres com câncer de mama, não sendo esta diferença significante, e a expressão do p53 foi de 57,6% nos homens e 31,8% nas mulheres (P=0,01).

Alguns estudos mostram diferenças significativas entre homens e mulheres com câncer de mama em relação à expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica. Weber-Chappuis (1996) comparando 66 casos de câncer de mama masculino com 190 femininos, encontrou maior frequência de RE positivos e p53 negativos em homens. Mourão Netto et al. (2001), em trabalho realizado com 48 casos de câncer de mama masculinos, encontraram positividade do HER2, p53 e ki-67 em 62,5%, 16,7% e 20,8% dos casos respectivamente, e 75% tinham RE e 69% RP positivos. Giordano et al. (2002) mostraram que homens têm maiores taxas de positividade de receptores de estrógeno e progesterona do que nas mulheres, mas têm porcentagens similares de HER2, p53, ciclina D1 e EGFR. Contractor et al. (2008) em uma revisão de vários estudos, também encontraram maiores taxas de RE nos homens, e porcentagens similares às mulheres em relação à expressão do HER2, p53 e ciclina D1; nos homens, as taxas dos RE variaram de 55,3 a 91%, dos RP de 48,2 a 96% e dos RA de 34 a 95%. Pinero et al. (2010), encontraram positividade dos RE, RP e RA em 79, 81 e 28% dos homens e 64, 52 e 32% das mulheres com câncer de mama respectivamente, e em relação

ao HER2 encontraram positividade em 18,9% dos homens e 18,3% das mulheres.

Os tumores de mama nos homens têm maior frequência de positividade do bcl-2. Neste estudo, encontrou-se este marcador positivo em 78,4% dos casos masculinos e 56,1% dos femininos e esta diferença foi significativa (P=0,01). Rayson et al. (1998) encontraram positividade em 94%, e em um estudo comparativo com mulheres com câncer de mama, Muir et al. (2003) mostraram positividade em 79% dos homens e 76% das mulheres, mas esta diferença não foi significativa.

No presente estudo, a expressão do RA foi maior no sexo masculino (65,7%), em comparação às mulheres com câncer de mama (33,9%), sendo esta diferença significativa. Estudo realizado por Brys (2000) avaliou a importância dos andrógenos e seus receptores na gênese e desenvolvimento do câncer de mama em mulheres, encontrando alta expressão do RA. A importância e o valor prognóstico deste marcador serão discutidos adiante.

A expressão das citoqueratinas ajudou a identificar subtipos de tumores da mama com comportamentos clínicos diferentes. Avaliando as citoqueratinas nos homens com câncer de mama, encontrou-se, neste estudo, diferenças significativas em relação às mulheres com a mesma patologia. As CK 5, 6 e 14 e 17 foram positivas nos homens na proporção de 2,6%, 10,8%, 0 e 9,1% respectivamente, sendo uma expressão diferente quando comparadas com as mulheres (21,1%, 6,1%, 16,1% e 20,9%). As citoqueratinas 8 e 18 foram

expressas em 100 e 97,2% dos homens e 98,1% e 92,8% nas mulheres, respectivamente, e por apresentarem baixo peso molecular e pouca especificidade, não foram utilizadas como critérios para caracterização dos subtipos moleculares no câncer de mama.

Em relação a esta caracterização, encontramos na literatura várias metodologias distintas que permitiram um aperfeiçoamento destas classificações ao longo dos anos. Os estudos iniciais foram realizados com micro-arranjos do DNA e foram avaliados os padrões de expressão gênica dos tumores mamários. Posteriormente foi possível a utilização da técnica imuno-histoquímica para classificar os tumores de mama nos subtipos luminal A e B, *basal-like* e HER2 superexpresso. Esta classificação tem sido útil na avaliação prognóstica do câncer de mama feminino, no entanto existem poucos trabalhos em relação a esta classificação nos homens com câncer de mama.

O presente estudo realizou a classificação dos subtipos moleculares no câncer de mama masculino utilizando a técnica imuno-histoquímica e comparou com mulheres com a mesma patologia. Apesar das limitações metodológicas relacionadas com a análise dos subtipos moleculares através da técnica imuno-histoquímica, o número reduzido de casos de câncer de mama masculina nos diversos serviços dificulta estudos prospectivos ou com micro-arranjos do DNA.

Utilizando como referência a metodologia adotada por Carey et al. (2006), na caracterização dos subtipos moleculares encontrou-se nos homens

com câncer de mama 67,6% de luminal A, 21,6% luminal B, 8,1% *basal-like*, 2,7% não classificável e não se encontrou nenhum caso classificado como HER2 superexpresso. Nas mulheres do grupo controle 55,9% foram classificadas como luminal A, 20,6% luminal B, 7,8% HER2 superexpresso, 6,9% *basal-like* e 8,8% não classificável.

Ciocca et al. (2006) relataram que homens com câncer de mama têm um fenótipo *basal-like* que é similar em frequência aos casos de mulheres com câncer de mama, e a maioria dos tumores de mama masculina expressam o fenótipo luminal; algumas citoqueratinas expressas sugerem um subtipo patologicamente mais agressivo de tumor e as CK 5, 6 e 14 foram positivas em 4 casos e estavam relacionadas a tumores maiores e com intermediário ou alto grau histológico.

Ge et al. (2009) em um estudo com 42 casos de câncer de mama masculino, identificaram apenas dois dos subtipos moleculares na sua casuística, sendo luminal A (83%) e luminal B (17%). Os subtipos *basal-like* e HER2 superexpresso não foram observados neste grupo de pacientes, pois o receptor de estrógeno foi positivo em 100% dos casos. Em relação ao HER2, foi superexpresso em 16% dos casos. Este estudo não foi capaz de correlacionar os subtipos moleculares no câncer de mama masculino com a sobrevida deste grupo de pacientes. No presente estudo, além dos subtipos luminais, encontrou-se o subtipo *basal-like* e os não classificáveis, e ainda

foram correlacionados com a sobrevida e comparados com as mulheres com a mesma patologia.

Speirs e Ball (2010), em um estudo comparando 260 homens com 263 mulheres com câncer de mama, através da técnica imuno-histoquímica encontraram o subtipo luminal A como o fenótipo mais comum em ambos os sexos. O fenótipo luminal B não foi visto no sexo masculino e o *basal-like* foi infrequente em ambos.

Existem controvérsias em relação à sobrevida no câncer de mama no sexo masculino em comparação com o sexo feminino. Alguns estudos sugerem um pior prognóstico nos homens podendo ser atribuído ao estádio clínico mais avançado no diagnóstico e maior incidência de linfonodos positivos (Joshi et al., 1996).

Os fatores prognósticos no câncer de mama incluem informações do estadiamento clínico, grau histológico, contagem do número de mitoses, estado dos receptores hormonais, HER2, marcadores de proliferação, invasão linfática e sanguínea, p53 bcl-2, pS2, catepsina D, entre outros. Segundo o consenso do Colégio Americano de Patologistas, os principais fatores prognósticos são o tamanho do tumor e o estado linfonodal, ou seja, o estádio clínico (Fitzgibbons et al., 2000).

No presente estudo, na análise não estratificada de acordo com o gênero, não se encontra diferença na sobrevida global e sobrevida livre de doença. O estádio clínico e o estado linfonodal estavam relacionados com pior

prognóstico. As comorbidades associadas ao câncer de mama não influenciaram na sobrevida.

Na análise estratificada de acordo com o gênero, o prognóstico foi pior nos dois grupos com linfonodos axilares positivos, mas a diferença foi significativa no grupo das mulheres (P<0,01). Borgen et al. (1997), em um estudo que comparou 58 homens com câncer de mama com 174 mulheres com a mesma patologia, encontraram que o prognóstico do câncer de mama em homens era comparável ao das mulheres com a mesma idade e estádio da doença.

Um estudo retrospectivo realizado por Willsher et al. (1997) comparando a sobrevida global e sobrevida livre de doença entre homens e mulheres com câncer de mama, mostrou resultados similares quando pareados pelos fatores prognósticos conhecidos. Uma revisão realizada por Ravandi-Kashani e Hayes (1998), mostrou que quando pareados por idade e estádio clínico não havia diferença na sobrevida dos homens e mulheres com câncer de mama, conflitando com a hipótese de que o câncer de mama em homens teria um pior prognóstico.

Park et al. (2008), analisaram as características clinicas e patológicas de 20 casos de câncer de mama masculina e compararam com 4648 mulheres com câncer de mama. A sobrevida global e sobrevida livre de doença em 5 anos foi respectivamente, 85,6 e 91,7% nos homens e 86,3 e 81,7% nas mulheres, não havendo diferença significativa, mostrando que a biologia do

câncer de mama masculina não é significativamente diferente do câncer de mama feminina.

É possível concluir que o estádio clínico e o estado linfonodal dos homens e mulheres com câncer de mama têm influência na sobrevida, sendo de pior prognóstico os pacientes em estádios clínicos mais avançados e com linfonodos axilares positivos.

Neste estudo, os pacientes que foram submetidos à mastectomia e esvaziamento axilar tiveram pior prognóstico. Os que não haviam realizado radioterapia, pois eram pacientes metastáticos, também tiveram pior prognóstico. Em relação à quimioterapia e à hormonioterapia, a sobrevida global e a sobrevida livre de doença foram melhores nos pacientes que receberam estes tratamentos.

Os tipos e graus histológicos não tiveram impacto na sobrevida e a presença de embolização linfática, sanguínea e invasão perineural, no sexo feminino, estavam relacionadas com pior prognóstico.

No presente estudo, tiveram melhor sobrevida global e sobrevida livre de doença em 5 anos os homens com receptores de estrógenos positivos e CK 5 e 17 negativas, e as mulheres com ki-67 negativo, sendo estes resultados, significativos. Em relação aos receptores de progesterona, a sobrevida global e sobrevida livre de doença foram respectivamente 80,5 e 85,1% nos homens e 69,4 e 66,9% nas mulheres, mas estas diferenças não foram significativas. Um estudo correlacionando os marcadores expressos pela técnica imuno-

histoquímica com a sobrevida (Wang-Rodriguez et al., 2002), encontrou que pacientes com RE positivos tinham uma melhor sobrevida em relação aos pacientes com RE negativos, mas não encontraram correlação com o RP.

Em uma revisão realizada por Contractor et al. (2008), em 5 anos, a sobrevida global variou de 25 a 88% e a sobrevida livre de doença de 35 a 65%. O estádio clínico e o estado linfonodal axilar foram considerados os mais importantes fatores preditores independentes de sobrevida global, no entanto indicaram a falta do valor prognóstico de RE e RP em homens com câncer de mama. A conclusão é que o cenário em relação ao câncer de mama masculino está mudando principalmente, no que diz respeito a melhor compreensão da fisiopatologia, fatores etiológicos e marcadores moleculares.

Um estudo realizado por Doane et al. (2006), analisou o padrão de expressão gênica de 99 casos de câncer de mama em mulheres com RE e RP negativos e caracterizou subclasses de tumores demonstrando uma resposta proliferativa ao andrógeno em um receptor de andrógeno dependente, sugerindo que o crescimento do câncer de mama pode estar relacionado com esta via. No câncer de mama masculino não se sabe se o crescimento do tumor está relacionado com o estrógeno ou andrógeno. Na série observada, não houve relação significativa deste marcador com a sobrevida global e sobrevida livre de doença em 5 anos. No sexo feminino, houve uma pior sobrevida global nas mulheres com RA positivos em comparação aos homens, mas esta diferença não foi significativa (P=0,47). A taxa de receptores de

andrógeno nos homens com câncer de mama e sua relação com o prognóstico é controversa, no entanto, Kwiatkowska et al. (2003) encontraram forte correlação entre receptores de andrógeno e sobrevida global e livre de doença, sugerindo que a positividade deste marcador está relacionada com pior prognóstico. Parece não haver associação dos receptores de andrógeno com a idade, tamanho do tumor e estado linfonodal.

No presente estudo, nas mulheres com ki-67 positivo, a sobrevida global e sobrevida livre de doença foram menores e esta diferença em relação ao ki-67 negativo foi significativa. Nos homens não houve diferença significativa nos pacientes com o Ki-67 positivo ou negativo, e, portanto, não foi considerado fator prognóstico neste grupo analisado. Vários estudos correlacionam a elevação do ki-67, que é expresso apenas em células proliferativas, a um aumento do risco de recorrência e morte. Estudos mostraram que o Ki-67 está elevado de 20 a 40% dos homens com câncer de mama, e tem importante associação com receptores hormonais negativos e pior prognóstico (Wang-Rodrigues et al., 2002).

Nesta pesquisa, o HER2 quando analisado isoladamente não mostrou diferença na sobrevida global e sobrevida livre de doença em nenhum dos gêneros, e, portanto, não foi considerado fator prognóstico. Em relação a este marcador, a superexpressão está relacionada como fator prognóstico e pior sobrevida em mulheres com câncer de mama (Sorlie et al., 2001). Dados publicados sugerem que a sua expressão está relacionada com fatores

prognósticos desfavoráveis também em câncer de mama masculino (Fonseca et al., 2006; Ge et al., 2009).

O gene supressor tumoral p53 que tem sido relacionado à diminuição da sobrevida (Pich et al., 2000; Giordano et al., 2002; Idelevich et al., 2003), no presente estudo não mostrou essa correlação.

O bcl-2 e a ciclina D1, que têm sido correlacionados com fatores prognósticos favoráveis em mulheres com câncer de mama (Giordano et al., 2002) neste estudo, quando se analisou a sobrevida nestes grupos, não se encontrou relevância destes marcadores como sendo fatores prognósticos.

Quando analisadas isoladamente, as citoqueratinas não tiveram impacto na sobrevida global e sobrevida livre de doença.

A sobrevida global do grupo todo, de acordo com os subtipos moleculares foi pior no subtipo *basal-like*. Neste grupo a maioria era EC 3, apresentava linfonodos axilares positivos e alto grau histológico. O ki-67 e o p53 estavam positivos em 60% dos casos, e o RA e o bcl-2, que têm sido relacionados com fatores prognósticos favoráveis estavam negativos na maioria dos casos.

Nos casos HER2 superexpresso, 25% eram do EC 4 e 37,5% do EC 3, sendo portanto 62,5% dos casos em estádios avançados. Os linfonodos axilares estavam positivos em 75% dos pacientes. A ciclina D1 e o bcl-2 eram negativos e o ki-67 positivo na maioria dos casos, mostrando características de pior prognóstico nesta subclasse de tumores.

De acordo com o gênero, quando classificados pelos fenótipos, a sobrevida global em 5 anos foi pior nos homens e nas mulheres no subtipo *basal-like*. Nas mulheres o subtipo HER2 superexpresso também teve pior prognóstico. Os subtipos luminal A e luminal B tiveram melhor sobrevida nos homens e nas mulheres, e a sobrevida livre de doença em 5 anos também foi melhor nestes subtipos moleculares. No sexo feminino houve uma menor sobrevida livre de doença nos subtipos *basal-like* e HER2 superexpresso.

Sorlie et al. (2003) relataram que o tempo de desenvolvimento de metástases à distância está fortemente relacionado aos subtipos de tumores encontrados: pior para o *basal-like* e HER2 superexpresso, melhor para o luminal A e intermediário para o luminal B. Os tumores com características *basal-like* identificados com as citoqueratinas basais, receptores de estrógeno negativos, e ausência da expressão do HER2, estão associados a um tempo de sobrevida mais curta e com alta frequência de mutação do gene TP53. Geralmente, o estádio clínico é mais avançado no diagnóstico quando comparados com tumores que expressam o fenótipo luminal.

Um estudo realizado por Cheang et al. (2009) analisou os receptores hormonais, o HER2, o ki-67 e a sobrevida global e sobrevida livre de doença de 357 mulheres com câncer de mama, e encontrou características distintas nos subtipos moleculares luminal A e luminal B. No presente estudo, comparando-se os subtipos luminal A com o luminal B encontram-se algumas diferenças. Nestas subclasses de tumores notam-se muitos fatores clínicos, patológicos e

imuno-histoquímicos de bom prognóstico, confirmados pela sobrevida global e sobrevida livre de doença. Em relação ao RA, a expressão positiva foi mais frequente nestes subtipos tanto no sexo masculino, como no feminino. Nos homens com o subtipo luminal A 69,6% apresentavam RA positivo, e nas mulheres 40% dos luminais A e 42,9% dos luminais B. Estas diferenças não foram significativas e não tiveram relação com a sobrevida.

Um trabalho realizado por Goldstein et al. (2007), avaliando a resposta à quimioterapia neoadjuvante, correlacionaram com os subtipos moleculares e concluíram que esta classificação seria útil para identificar os casos que melhor respondem ao tratamento e podem apresentar resposta patológica completa. O presente estudo não fez esta correlação, mas pesquisas futuras podem responder, se esta classificação pode predizer resposta ao tratamento do câncer de mama masculino.

Na análise multivariada não se encontrou o sexo como fator prognóstico independente quando ajustado pela idade e estádio clínico. Em uma análise multivariada comparando fatores preditores de câncer de mama em homens e em mulheres (2.923 homens: 442.500 mulheres, do SEER), o gênero não teve um efeito significante na sobrevida (Hill et al., 2005). No estudo atual, o estádio clínico e o estado linfonodal axilar tiveram impacto na sobrevida, sendo que os estádios mais avançados (3 e 4) e os pacientes com linfonodos axilares positivos tiveram pior prognóstico. Em relação ao tratamento, a quimioterapia e a radioterapia não foram fatores determinantes do óbito, mas os indivíduos que

realizaram quimioterapia tiveram melhor sobrevida global e sobrevida livre de doença. Estudo realizado por Guinee et al. (1993), analisando o prognóstico do câncer de mama em homens, encontraram na análise multivariada que o número de nódulos axilares histologicamente positivos, o menor grau e o diâmetro do tumor eram fatores prognósticos significantes na câncer de mama masculino.

A análise dos casos masculinos pareados com os femininos em função da faixa etária, estádio clínico e década de diagnóstico permite uma caracterização das semelhanças e possíveis diferenças existentes entre eles, em relação aos dados clínicos, patológicos e da expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica.

Em resumo, o câncer de mama no homem apresenta-se frequentemente, com histologia não lobular, receptores hormonais positivos e HER2 negativos. Neste estudo, a idade no diagnóstico e o estádio clínico não são mais avançados em relação às mulheres, quando comparados na literatura. A sobrevida global parece ser similar nos gêneros masculino e feminino após ajuste dos fatores prognósticos conhecidos.

Após a análise da expressão dos marcadores pela técnica imuno-histoquímica, a conclusão a respeito dos mecanismos de crescimento e controle do câncer de mama masculino é que o câncer de mama nos homens apresenta diferenças imunofenotípicas distintas daquelas que ocorrem nas mulheres, implicando diferentes patogêneses na evolução e tratamento da

doença. A alta porcentagem de casos com receptores de estrógeno, progesterona e andrógeno positivos mostra uma importante contribuição destes hormônios na carcinogênese do câncer de mama no homem.

Estes resultados indicam que o câncer de mama em homens não é biologicamente mais agressivo do que nas mulheres, no entanto são necessários outros estudos multicêntricos e caso-controle para confirmar estes achados.

6. CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho, observou-se:

- O câncer de mama no homem apresenta-se frequentemente com histologia não lobular, receptores hormonais positivos e HER2 negativos, e maior expressão de bcl2 e ciclina D1;
- Não houve diferença entre os fenótipos moleculares caracterizados pela imuno-histoquímica;
- O receptor de andrógeno foi expresso frequentemente nos homens, nos fenótipos luminais e não teve correlação com a sobrevida;
- O fenótipo basal-like teve pior prognóstico nos sexos masculino e feminino;
- O estádio clínico e o estado linfonodal tiveram influência na sobrevida, sendo de pior prognóstico os pacientes com estádios clínicos mais avançados e com linfonodos axilares positivos;
- O sexo não foi considerado fator prognóstico independente;
- Não houve diferença na sobrevida entre os homens e mulheres.

7. ANEXOS

7. ANEXOS

ANEXO 1 – Carta de aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Barretos

Fundação Pio XII
Hospital de Câncer de Barretos
Reg. no C.N.S.S. 242.299/78
Utilidade Pública Federal Lei N.º 90.935/85
Utilidade Pública Estadual Lei N.º 2.224/79
Utilidade Pública Municipal Lei N.º 3.166/78
Inscrição no C.N.P.J. 49.150.352/0001-12
Inscrição Estadual 204.032.103.118

Barretos, 20 de setembro de 2007.

Prezado (a) Sr. (a). Investigador (a)
Rodrigo Augusto D. Michelli

111/2007: "Estudo caso-controle dos marcadores clínico-patológicos imuno-histoquímicos no câncer de mama masculino em relação ao feminino e seu impacto com a sobrevida".

O Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Pio XII, analisou o protocolo citado acima, em reunião ordinária realizada no dia 13/09/2007, onde por decisão do mesmo se encontra na categoria **APROVADO.**

Atenciosamente,

Dr. Eduardo José A. Paton
Vice-coordenador CEP

HOSPITAL: Rua 20 N.º 221 - Centro - Tel.: PBX (17) 3321-5500 - Cep 14780-070 - Barretos - SP - *E-mail: hcancer@hcancerbarretos.com.br*
AMBUL.: Rua Antenor Duarte Villela N.º 1331 - B. Dr. Paulo Prata - Fone PBX (17) 3321-6600 - Cep 14784-400 - Barretos - SP
mod. 155

ANEXO 2 – Carta de aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - CAPPesq

HC HOSPITAL DAS CLÍNICAS

Ao
Departamento de Radiologia

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em 16.07.08, tomou ciência da execução do Protocolo de Pesquisa nº **0557/08**, intitulado: **"Estudo caso-controle dos marcadores clínico-patológicos e imuno-histoquímicos no câncer de mama masculino em relação ao feminino e seu impacto com a sobrevida".**

No que tange à sua parte empírica será desenvolvido no **Hospital do Câncer de Barretos** , tendo seu Comitê de Ética aprovado o estudo em 13.09.07.

Pesquisador(a) Responsável: **Prof. Dr. Ricardo Renzo Brentani**
Pesquisador(a) Executante: **Rodrigo Augusto Depieri Michelli**

CAPPesq, 16 de julho de 2008.

PROF. DR. CLAUDIO LEONE
Vice - Presidente da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP e da FMUSP
Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar - CEP 05403 010 - São Paulo - SP
Fone: 011 - 30696442 fax: 011 - 3069 6492 - e-mail: cappesq@hcnet.usp.br / secretariocappesq@hcnet.usp.br
nsnc

ANEXO 3 – Carta de aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital A C Camargo

Hospital
A.C.Camargo
Centro de Tratamento, Ensino e Pesquisa em Câncer

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

São Paulo, 17 de Março de 2010.

Ao
Dr. Ricardo Renzo Brentani

Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 1366/10
"Estudo Caso-Controle dos Marcadores Clínico-Patológicos e Imuno-Histoquímicos no Câncer de Mama Masculino em Relação ao Feminino e seu Impacto com a Sobrevida".

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antonio Prudente – Hospital do Câncer - A.C. Camargo/SP, em sua última reunião de 09/03/2010, **aprovaram** a realização do projeto em referência e tomaram conhecimento dos seguintes documentos:

- Folha de Rosto para Pesquisa Envolvendo Seres Humanos;
- Termo de Compromisso do Pesquisador com as Resoluções do Conselho Nacional de Saúde;
- Termo de Dispensa do Consentimento Livre e Esclarecido;
- Orçamento Financeiro Detalhado;
- Lista de Instituições Participantes;
- Declaração de Ciência e Comprometimento do Departamento de Anatomia Patológica.

Informações a respeito do andamento do referido projeto deverão ser encaminhadas à assistente do CEP dentro de 12 meses.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Luiz Paulo Kowalski
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

1/1

Fundação Antonio Prudente – CNPJ/MF N. 60.961.968/0001-06
Rua Prof. Antônio Prudente, 211 – Liberdade – São Paulo, SP – 01509-900
Telefone: (11) 2189-5000
www.accamargo.org.br

8. REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

1. Akkiprik M, Sonmez O, Gulluoglu BM, Caglar HB, Kaya H, Demirkalem P, et al. Analysis of p53 gene polymorphisms and protein over-expression in patients with breast cancer. Pathol Oncol Res. 2009;15(3):359-68.
2. Anderson WF, Jatoi I, Tse J, Rosenberg PS. Male breast cancer: a population-based comparison with female breast cancer. J Clin Oncol. 2010;28(2):232-9.
3. Anelli A, Anelli TF, Youngson B, Rosen PP, Borgen PI. Mutations of the p53 gene in male breast cancer. Cancer. 1995;75(9):2233-8.
4. Borgen PI, Senie RT, McKinnon WM, Rosen PP. Carcinoma of the male breast: analysis of prognosis compared with matched female patients. Ann Surg Oncol. 1997;4(5):385-8.
5. Brinton LA, Carreon JD, Gierach GL, McGlynn KA, Gridley G. Etiologic factors for male breast cancer in the U.S. Veterans Affairs medical care system database. Breast Cancer Res Treat. 2010;119(1):185-92.
6. Brys M. Androgens and androgen receptor: do they play a role in breast cancer? Med Sci Monit. 2000;6(2):433-8.
7. Burga AM, Fadare O, Lininger RA, Tavassoli FA. Invasive carcinomas of the male breast: a morphologic study of the distribution of histologic subtypes and metastatic patterns in 778 cases. Virchows Arch. 2006;449(5):507-12.
8. Callagy GM, Webber MJ, Pharoah PD, Caldas C. Meta-analysis confirms BCL2 is an independent prognostic marker in breast cancer. BMC Cancer. 2008;8:153.
9. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. JAMA. 2006;295(21):2492-502.
10. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. J Natl Cancer Inst. 2009;101(10):736-50.
11. Ciocca V, Bombonati A, Gatalica Z, Di Pasquale M, Milos A, Ruiz-Orrico A, et al. Cytokeratin profiles of male breast cancers. Histopathology. 2006;49(4):365-70.
12. Collins LC, Martyniak A, Kandel MJ, Stadler ZK, Masciari S, Miron A, et al. Basal cytokeratin and epidermal growth factor receptor expression are not predictive of BRCA1 mutation status in women with triple-negative breast cancers. Am J Surg Pathol. 2009;33(7):1093-7.
13. Contractor KB, Kaur K, Rodrigues GS, Kulkarni DM, Singhal H. Male breast cancer: is the scenario changing. World J Surg Oncol. 2008;6:58.
14. Crewe HK, Ellis SW, Lennard MS, Tucker GT. Variable contribution of cytochromes P450 2D6, 2C9 and 3A4 to the 4-hydroxylation of tamoxifen by human liver microsomes. Biochem Pharmacol. 1997;53(2):171-8.

15. Cutuli B, Le-Nir CC, Serin D, Kirova Y, Gaci Z, Lemanski C, et al. Male breast cancer. Evolution of treatment and prognostic factors. Analysis of 489 cases. Crit Rev Oncol Hematol. 2009;73(3):246-54.
16. Doane AS, Danso M, Lal P, Donaton M, Zhang L, Hudis C, et al. An estrogen receptor-negative breast cancer subset characterized by a hormonally regulated transcriptional program and response to androgen. Oncogene. 2006;25(28):3994-4008.
17. Donegan WL, Redlich PN, Lang PJ, Gall MT. Carcinoma of the breast in males: a multiinstitutional survey. Cancer. 1998;83(3):498-509.
18. Dunn BK, Ford LG. From adjuvant therapy to breast cancer prevention: BCPT and STAR. Breast J. 2001;7(3):144-57.
19. Esteves VF, Thuler LC, Amendola LC, Koifman RJ, Koifman S, Frankel PP, et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 gene mutations in families with medium and high risk of breast and ovarian cancer in Brazil. Braz J Med Biol Res. 2009;42(5):453-7.
20. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, Redmond CK, Kavanah M, Cronin WM, et al. Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. J Natl Cancer Inst. 1998;90(18):1371-88.
21. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med. 2000;124(7):966-78.
22. Fonseca RR, Tomas AR, Andre S, Soares J. Evaluation of ERBB2 gene status and chromosome 17 anomalies in male breast cancer. Am J Surg Pathol. 2006;30(10):1292-8.
23. Ge Y, Sneige N, Eltorky MA, Wang Z, Lin E, Gong Y, et al. Immunohistochemical characterization of subtypes of male breast carcinoma. Breast Cancer Res. 2009;11(3):R28.
24. Gennari R, Curigliano G, Jereczek-Fossa BA, Zurrida S, Renne G, Intra M, et al. Male breast cancer: a special therapeutic problem. Anything new? (Review). Int J Oncol. 2004;24(3):663-70.
25. Giordano SH. A review of the diagnosis and management of male breast cancer. Oncologist. 2005;10(7):471-9.
26. Giordano SH, Buzdar AU, Hortobagyi GN. Breast cancer in men. Ann Intern Med. 2002;137(8):678-87.
27. Giordano SH, Cohen DS, Buzdar AU, Perkins G, Hortobagyi GN. Breast carcinoma in men: a population-based study. Cancer. 2004;101(1):51-7.
28. Goldstein NS, Decker D, Severson D, Schell S, Vicini F, Margolis J, et al. Molecular classification system identifies invasive breast carcinoma patients who are most likely and those who are least likely to achieve a complete pathologic response after neoadjuvant chemotherapy. Cancer. 2007;110(8):1687-96.

29. Goss PE, Reid C, Pintilie M, Lim R, Miller N. Male breast carcinoma: a review of 229 patients who presented to the Princess Margaret Hospital during 40 years: 1955-1996. Cancer. 1999;85(3):629-39.
30. Guinee VF, Olsson H, Moller T, Shallenberger RC, van den Blink JW, Peter Z, et al. The prognosis of breast cancer in males. A report of 335 cases. Cancer. 1993;71(1):154-61.
31. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. J Clin Oncol. 2010;28(16):2784-95.
32. Hill TD, Khamis HJ, Tyczynski JE, Berkel HJ. Comparison of male and female breast cancer incidence trends, tumor characteristics, and survival. Ann Epidemiol. 2005;15(10):773-80.
33. Idelevich E, Mozes M, Ben-Baruch N, Huszar M, Kruglikova A, Katsnelson R, et al. Oncogenes in male breast cancer. Am J Clin Oncol. 2003;26(3):259-61.
34. INCA. ESTIMATIVA 2010 Incidência de Câncer no Brasil. 2010 [updated 2010; cited 2010 04/10/2010]; Available from: http://www.inca.gov.br/estimativa/2010/.
35. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. CA Cancer J Clin. 2009;59(4):225-49.
36. Joshi MG, Lee AK, Loda M, Camus MG, Pedersen C, Heatley GJ, et al. Male breast carcinoma: an evaluation of prognostic factors contributing to a poorer outcome. Cancer. 1996;77(3):490-8.
37. Kwiatkowska E, Teresiak M, Filas V, Karczewska A, Breborowicz D, Mackiewicz A. BRCA2 mutations and androgen receptor expression as independent predictors of outcome of male breast cancer patients. Clin Cancer Res. 2003;9(12):4452-9.
38. Levi F, Randimbison L, La Vecchia C. Breast cancer survival in relation to sex and age. Oncology. 1992;49(6):413-7.
39. Mauad EC, Vieira RAdC, Junior RLH, Bauab SdP, Norwig CG, Lourenço TS, et al. Impacto Regional do Programa de Rastreamento Mamográfico do Hospital de Câncer de Barretos. XIV Congresso Brasileiro de Mastologia; 2007 2007; Recife/PE. Anais do XIV Congresso Brasileiro de Mastologia; 2007. p. 95.
40. Mourao Netto M, Logullo AF, Nonogaki S, Brentani RR, Brentani MM. Expression of c-erbB-2, p53 and c-myc proteins in male breast carcinoma: Comparison with traditional prognostic factors and survival. Braz J Med Biol Res. 2001;34(7):887-94.
41. Muir D, Kanthan R, Kanthan SC. Male versus female breast cancers. A population-based comparative immunohistochemical analysis. Arch Pathol Lab Med. 2003;127(1):36-41.

42. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. Clin Cancer Res. 2004;10(16):5367-74.
43. Ogawa Y, Hai E, Matsumoto K, Ikeda K, Tokunaga S, Nagahara H, et al. Androgen receptor expression in breast cancer: relationship with clinicopathological factors and biomarkers. Int J Clin Oncol. 2008;13(5):431-5.
44. Park S, Kim JH, Koo J, Park BW, Lee KS. Clinicopathological characteristics of male breast cancer. Yonsei Med J. 2008;49(6):978-86.
45. Penault-Llorca F, Andre F, Sagan C, Lacroix-Triki M, Denoux Y, Verriele V, et al. Ki67 expression and docetaxel efficacy in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. J Clin Oncol. 2009;27(17):2809-15.
46. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nature. 2000;406(6797):747-52.
47. Pich A, Margaria E, Chiusa L. Oncogenes and male breast carcinoma: c-erbB-2 and p53 coexpression predicts a poor survival. J Clin Oncol. 2000;18(16):2948-56.
48. Pinero A, Ferri B, Polo L, Canteras M, Sola J, Bermejo J. Positive progesterone receptors and cell proliferation index: an independent association with breast cancer in males. Breast. 2010;19(2):133-6.
49. Ravandi-Kashani F, Hayes TG. Male breast cancer: a review of the literature. Eur J Cancer. 1998;34(9):1341-7.
50. Rayson D, Erlichman C, Suman VJ, Roche PC, Wold LE, Ingle JN, et al. Molecular markers in male breast carcinoma. Cancer. 1998;83(9):1947-55.
51. Smith RA, Cokkinides V, Brooks D, Saslow D, Brawley OW. Cancer screening in the United States, 2010: a review of current American Cancer Society guidelines and issues in cancer screening. CA Cancer J Clin. 2010;60(2):99-119.
52. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001;98(19):10869-74.
53. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003;100(14):8418-23.
54. Speirs V, Ball G. Male versus female breast cancer: a comparative study of 523 matched cases reveals differences behind similarity. Breast Cancer Res. 2010;12 Suppl 1:O1.
55. Stearns V, Johnson MD, Rae JM, Morocho A, Novielli A, Bhargava P, et al. Active tamoxifen metabolite plasma concentrations after coadministration of tamoxifen and the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. J Natl Cancer Inst. 2003;95(23):1758-64.
56. Wang-Rodriguez J, Cross K, Gallagher S, Djahanban M, Armstrong JM, Wiedner N, et al. Male breast carcinoma: correlation of ER, PR, Ki-67, Her2-Neu, and p53 with treatment and survival, a study of 65 cases. Mod Pathol. 2002;15(8):853-61.

57. Weber-Chappuis K, Bieri-Burger S, Hurlimann J. Comparison of prognostic markers detected by immunohistochemistry in male and female breast carcinomas. Eur J Cancer. 1996;32A(10):1686-92.
58. Willsher PC, Leach IH, Ellis IO, Bourke JB, Blamey RW, Robertson JF. A comparison outcome of male breast cancer with female breast cancer. Am J Surg. 1997;173(3):185-8.
59. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. J Clin Oncol. 2007;25(1):118-45.
60. Zucca-Matthes AG, Vieira RAdC, Haikel RL, Michelli RAD, Ribeiro GHFP, Junior AB. O câncer de mama e seu tratamento no Hospital de Câncer de Barretos. Âmbito Hospitalar. 2009:45 - 53.

APÊNDICES

APÊNDICES

APÊNDICE A – Ficha de coleta de dados clínicos

ESTUDO CASO-CONTROLE DOS MARCADORES CLÍNICO-PATOLÓGICOS E IMUNO-HISTOQUÍMICOS NO CÂNCER DE MAMA MASCULINO EM RELAÇÃO AO FEMININO E SEU IMPACTO COM A SOBREVIDA

ETIQUETA

01	**Nome**	**01**	
02	**Número do Estudo**	**02**	
03	**RGH**	**03**	
04	**Idade**	**04**	
05	**Sexo** (**1**) masculino (**2**) feminino	**05**	
06	**Data do Início** DD/MM/AA	**06**	
07	**Tempo de História** meses	**07**	
08	**Diagnóstico** (**1**) exame físico (**2**) mamografia (**3**) outro.....	**08**	
09	**Massa palpável** (**0**) ausente (**1**) presente	**09**	
10	**História familiar** (**0**) negativa (**1**) positiva	**10**	
11	**Comorbidades associadas** (**0**) ausente (**1**) presente	**11**	
10	**Tipos de comorbidades** (**1**) HAS (**2**) DM (**3**) Cardiopatia (**4**) Nefropatia (**5**)outras.....	**10**	
13	**EC** (**1**) 0 (**2**) I (**3**) IIA (**4**) IIB (**5**) IIIA (**6**) IIIB (**7**) IIIC (**8**) IV	**13**	
14	**EC-T** (**1**) Tis (**2**) T1 (**3**) T2 (**4**) T3 (**5**) T4	**14**	
15	**Tamanho da lesão** cm	**15**	
16	**EC-N** (**1**) N0 (**2**) N1 (**3**) N2 (**4**) N3	**16**	

17	**TRATAMENTO REALIZADO** **Data da cirurgia** DD/MM/AA	**17**	
18	**Cirurgia da mama** (**0**) não realizada (**1**) mastectomia (**2**) quadrantectomia (**3**) mastectomia + gde dorsal (**4**) outro.....	**18**	
19	**Cirurgia da axila** (**0**) não realizada (**1**) PLS (**2**) EA	**19**	
20	**Quimioterapia** (**0**) não realizada (**1**) realizada	**20**	
21	**Número ciclos**	**21**	
22	**Regime de quimioterapia (drogas)** (**0**)Não (**1**)AC (**2**)FAC (**3**)CMF (**4**)Taxano (**5**)Epirrubicina (**6**)Adriamicina (**7**)AT (**8**)AC+T	**22**	
23	**Regime de quimioterapia (tipo)** (**0**) nenhum (**1**) adjuvante (**2**) neoadjuvante (**3**) paliativa	**23**	
24	**Radioterapia** (**0**) não realizada (**1**) pré-operatória (**2**) pós-operatória (**3**) paliativa (sem cirurgia) (**4**) outro	**24**	
25	**Radioterapia** **dose**	**25**	
26	**Hormonioterapia** (**0**) não (**1**) Após cirurgia (**2**) Após quimioterapia (**3**) Sim outro	**26**	
27	**1ª Recorrência da doença** (**0**) não (**1**) plastrão (**2**) fígado (**3**) pulmão (**4**) SNC (**5**) Fossa SC (**6**) Osso (**7**) Perdido de seguimento (**99**) IGN	**27**	
28	**Data da 1ª recorrência** DD/MM/AA	**28**	
29	**RECORRÊNCIA AO LONGO DA DOENÇA** **R. Pulmão** (**0**) ausente (**1**) presente (**2**) Perdido de seguimento (**99**) IGN	**29**	
30	**R. Óssea** (**0**) ausente (**1**) presente (**2**) Perdido de seguimento (**99**) IGN	**30**	
31	**R. Fígado** (**0**) ausente (**1**) presente (**2**) Perdido de seguimento (**99**) IGN	**31**	
32	**R. SNC** (**0**) ausente (**1**) presente (**2**) Perdido de seguimento (**99**) IGN	**32**	
33	**R. FSC** (**0**) ausente (**1**) presente (**2**) Perdido de seguimento (**99**) IGN	**33**	
34	**R. Pele** (**0**) ausente (**1**) presente (**2**) Perdido de seguimento (**99**) IGN	**34**	
35	**Data da última consulta ou óbito** DD/MM/AA	**35**	
36	**Status** (**0**) Morto por câncer (**1**) Morto por outra causa (**2**) Vivo com doença (**3**) Vivo sem doença (**4**) Perdido de seguimento com doença (**5**) Perdido de seguimento sem doença (**99**) IGN	**36**	

APÊNDICE B – Ficha de coleta de dados patológicos

ESTUDO CASO-CONTROLE DOS MARCADORES CLÍNICO-PATOLÓGICOS E IMUNO-HISTOQUÍMICOS NO CÂNCER DE MAMA MASCULINO EM RELAÇÃO AO FEMININO E SEU IMPACTO COM A SOBREVIDA

ETIQUETA

01	**Nome**	**01**	
02	**Número do Estudo**	**02**	
03	**RGH**	**03**	
04	**DADOS HISTOPATOLÓGICOS** **Tipo histológico** (**1**) carcinoma ductal in situ (**2**) carcinoma ductal infiltrativo (**3**) carcinoma lobular infiltrativo (**4**)outro.....	**04**	
05	**Grau histológico** (**1**) 1 (**2**) 2 (**3**) 3 (**99**)ignorado	**05**	
06	**Grau nuclear** (**1**) 1 (**2**) 2 (**3**) 3 (**99**) ignorado	**06**	
07	**Estadiamento patológico EP** (**1**) 0 (**2**) I (**3**) IIA (**4**) IIB (**5**) IIIA (**6**) IIIB (**7**) IIIC (**8**) IV	**07**	
08	**EP-T** (**1**) Tis (**2**) T1 (**3**) T2 (**4**) T3 (**5**) T4	**08**	
09	**EP-N** (**1**) N0 (**2**) N1 (**3**) N2 (**4**) N3	**09**	
10	**Número de LN Comprometidos**	**10**	
11	**Número de LN Dissecados**	**11**	
10	**Embolização linfática** (**0**) não detectada (**1**) presente	**10**	
13	**Embolização sanguínea** (**0**) não detectada (**1**) presente	**13**	
14	**Invasão perineural** (**0**) não detectada (**1**) presente	**14**	

APÊNDICE C – Ficha de coleta de dados imuno-histoquímicos

ESTUDO CASO-CONTROLE DOS MARCADORES CLÍNICO-PATOLÓGICOS E IMUNO-HISTOQUÍMICOS NO CÂNCER DE MAMA MASCULINO EM RELAÇÃO AO FEMININO E SEU IMPACTO COM A SOBREVIDA

ETIQUETA

01	**Nome**	**01**	
02	**Número do Estudo**	**02**	
03	**RGH**	**03**	
04	**DADOS IMUNO-HISTOQUÍMICOS** **Receptor de estrógeno** (**0**) negativo (**1**) positivo	**04**	
05	**Receptor de progesterona** (**0**) negativo (**1**) positivo	**05**	
06	**Receptor de andrógeno** (**0**) negativo (**1**) positivo	**06**	
07	**Bcl-2** (**0**) negativo (**1**) positivo	**07**	
08	**Ciclina D1** (**0**) negativo (**1**) positivo	**08**	
09	**Citoqueratina 5** (**0**) negativo (**1**) positivo	**09**	
10	**Citoqueratina 6** (**0**) negativo (**1**) positivo	**09**	
11	**Citoqueratina 8** (**0**) negativo (**1**) positivo	**09**	
12	**Citoqueratina 14** (**0**) negativo (**1**) positivo	**09**	
13	**Citoqueratina 17** (**0**) negativo (**1**) positivo	**09**	
14	**Citoqueratina 18** (**0**) negativo (**1**) positivo	**10**	
15	**P53** (**0**) negativo (**1**) positivo	**11**	
16	**c-erb-B2** (**0**) negativo (**1**) fracamente positivo (**2**) fortemente positivo	**12**	
17	**Ki-67** (**0**) < 10% (**1**) > 10%	**13**	