

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas**

Gabriela Rosali dos Santos

**Expressão de receptores hormonais, HER2 e Ki-67 em  
Doença de Paget da Mama**

**Porto Alegre, 2008**

**Gabriela Rosali dos Santos**

**Expressão de receptores hormonais, HER2 e Ki-67 em  
Doença de Paget da Mama**

**Trabalho realizado no Instituto Europeu de Oncologia, Milão  
sob orientação da Dra. Viviana Galimberti e do Dr. Mattia Intra**

Dissertação para a obtenção do título de Mestre apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas.

Orientadora: Maria Isabel Albano Edelweiss

**Porto Alegre, 2008**

**S237e** Santos, Gabriela Rosali dos  
Expressão dos marcadores moleculares em Doença de Paget da mama : trabalho realizado no Instituto Europeu de Oncologia, Milão sob orientação da Dra. Viviana Galimberti e do Dr. Mattia Intra / Gabriela Rosali dos Santos ; orient. Maria Isabel Albano Edelweiss. – 2008.  
103 f.

**Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre, BR-RS, 2008.**

1. Doença de Paget mamária 2. Carcinoma intraductal não infiltrante 3. Neoplasias mamárias 4. Antineoplásicos 5. Marcadores biológicos de tumor 6. Receptor erbB-2 I. Edelweiss, Maria Isabel Albano II. Título.

NLM: QZ 365

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

---

## Dedicatórias

---

Aos meus pais, **Neri e Zenira**, porque me fizeram ser o que sou

Ao meu irmão, **Leandro**, pelo seu jeito de ser desligado e, ao mesmo tempo,  
preocupado

Aos meus tios, **Gel e João**, por estarem sempre ao meu lado

À minha mãe de coração, **Tê**, pela sua sensatez

Aos meus amigos e mestres **Dr. Ricardo Boff, Dr. Antônio Frasson, Dr. Mauricio Magalhães e Dr. Cícero Urban**, que me estimularam a continuar  
buscando o crescimento científico

Às **pacientes**, porque são elas a razão principal do meu trabalho.

## Agradecimentos

---

À minha orientadora, **Maria Isabel Albano Edelweiss**, pelo estímulo constante,  
a positividade contagiante e o apoio incondicional

Ao **Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas**, pela oportunidade de  
crescimento científico

Ao **Serviço de Mastologia do Instituto Europeu de Oncologia**, onde fiz minha  
formação em mastologia

Aos colegas do Instituto Europeu de Oncologia, **Dra. Viviana Galimberti, Dr.  
Mattia Intra e Dra. Giovanna Gatti**, pelo apoio no desenvolvimento deste  
trabalho

As *datamanagers*, **Daniela Gilardi e Claudia Sangalo**, pelo incansável apoio

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior  
(CAPES)** pelo apoio financeiro

A **Deus**, que possibilita tudo.

## LISTA DE TABELAS

### **Artigo (1) em Inglês**

**Table 1** – Patients' characteristics

**Table 2** – Disease Histology

**Table 3** – Description of events

**Table 4** - Molecular markers

### **Artigo (1) em Português**

**Tabela 1** – Características clínicas, do tumor e do tratamento

**Tabela 2** – Patologia

**Tabela 3** – Eventos

**Tabela 4** – Marcadores Moleculares

### **Artigo (2) em Inglês**

**Table 1** - Patients' characteristics and stratification for histology

**Table 2** - Disease Histology

**Table 3** - Description of events

**Table 4** - Univariate analysis: survival stratified according to clinicopathologic features

## LISTA DE FIGURAS

### Artigo (1) em Inglês

**Figure 1** - MPD showing Paget cells with atypical round or oval nuclei and abundant basophilic, amphophilic or clear cytoplasm. H&E 200x

**Figure 2** - MPD showing Paget cells with negative immunoreaction for ERs. IHQ anti ER- 200x

**Figure 3** - MPD showing Paget cells with nuclear positivity for Ki67 in more than 10% of tumor cells. IHQ anti MIB1- 200x

**Figure 4** - MPD showing Paget cells with nuclear positivity for Ki67 in almost 50% of tumor cells. IHQ anti MIB 1- 100x

**Figure 5** - MPD showing Paget cells with nuclear positivity for ERs (with underlying invasive ductal carcinoma). IHQ anti ER- 100x

**Figure 6** - MPD showing Paget cells with intense complete membrane staining (3+) for Her2 in almost 100% of tumor cells. IHQ – anti HER 2- 200x

### Artigo (1) em Português

**Figura 1** - DPM mostrando células de Paget com núcleos redondos atípicos ou núcleos ovais e abundante basofílicos ou claros citoplasmas. H&E 200x

**Figura 2** - DPM mostrando células de Paget com imunorreação negativa para RE. IHQ anti RE- 200x

**Figura 3** - DPM mostrando células de Paget com positividade para Ki-67 em mais de 10% das células tumorais. IHQ anti MIB1- 200x

**Figura 4** - DPM mostrando células de Paget com positividade para Ki-67 em mais de 50% das células tumorais. IHQ anti MIB 1- 100x

**Figura 5** - DPM mostrando células de Paget com positividade para RE (carcinoma ductal invasor associado). IHQ anti ER- 100x

**Figura 6** - DPM mostrando células de Paget com intensa reação para HER2 (3+) em quase 100% das células tumorais. IHQ – anti HER 2- 200x

### **Revisão Bibliográfica**

**Figura 1** - Macrofotografia de um mamilo que demonstra ductos galactóforos com alterações características de DPM na epiderme.

**Figura 2** (a e b) - DPM associada com envolvimento de ductos do mamilo e originada pela infiltração de células de CDIS de alto grau na epiderme do mamilo. Estas células podem ser demonstradas usando imunocoloração para citoqueratinas glandulares de baixo peso molecular (b).

**Figura 3** - DPM mostrando pele da aréola com infiltração de células maiores (células de Paget) disseminadas e infiltrando o epitélio até a superfície. Os núcleos são pleomórficos e as células maiores que as normais. Na superfície vê-se o aspecto queratinizado esboçando crostas. H&E 200x.

**Figura 4** - (A) DPM mostrando células carcinomatosas intraepidermais, H&E 200x. (B) Marcada reação completa para HER-2/Neu por imuno-histoquímica, 200x. (C) Cortes de DPM com carcinoma invasor e carcinoma *in situ* moderadamente diferenciados, H&E 100x. (D) Moderada e difusa positividade de HER-2/Neu em carcinoma invasor e carcinoma *in situ*. 100x. (E) Amplificação de HER-2/Neu demonstrada por FISH, 100x. (F) DPM mostrando células intraepidermais, H&E 200x. (G) Positividade dos receptores de estrogênio por imuno-histoquímica dentro das células neoplásicas, H&E 200x. (H) Carcinoma ductal invasor moderadamente diferenciado, H&E 100x. (I) Receptores de estrogênio positivos dentro das células neoplásicas por imuno-histoquímica, 100x.

### **Artigo (2) em Inglês**

**Fig. 1** - Tumor specific survival

**Fig. 2** - Disease free survival



## LISTA DE ABREVIATURAS

ALND - *axillary lymph node dissection*

BLS - biópsia do linfonodo sentinela

CAP - complexo aréolo-papilar

CI – carcinoma infiltrante

CDIS - carcinoma *in situ*

CMF – Ciclofosfamida, Metotrexate e Fluorouracil

DA - dissecação axilar completa

DCIS - *ductal carcinoma in situ*

DPM – Doença de Paget da Mama

EIO - *European Institute of Oncology*

ER – *estrogen receptor*

FISH - *Fluorescence In Situ Hybridization*

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HER2 - Human Epidermal Growth Factor Receptor – Type 2

H&E - hematoxilina e eosina

IEO - Instituto Europeu de Oncologia

IHQ – imuno-histoquímica

LS – linfonodo sentinela

MRI – *Magnetic resonance imaging*

MRM - Mastectomia Radical Modificada

RM – ressonância magnética

PPGCM – Programa Pós-Graduação em Ciências Médicas

PR - *progesterone receptor*

RE – receptor de estrogênio

RP – receptor de progesterona

SLB - *sentinel node biopsy*

SNL - *Sentinel lymph node*

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**SUMÁRIO**

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
2.1. HISTÓRICO.....	14
2.2. ETIOPATOGENIA.....	14
2.3. QUADRO CLÍNICO.....	15
2.4. HISTOPATOLOGIA .....	19
2.5. IMUNO-HISTOQUÍMICA.....	23
<b>2.5.1. HER2.....</b>	<b>24</b>
<b>2.5.1. Receptores de estrogênio e progesterona.....</b>	<b>27</b>
<b>2.5.1. Ki-67.....</b>	<b>28</b>
2.6. DIAGNÓSTICO.....	28
2.7. TRATAMENTO.....	30
2.8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	32
<b>3. OBJETIVOS DO ESTUDO.....</b>	<b>33</b>
3.1.OBJETIVO GERAL.....	33
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
<b>4. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>34</b>
<b>5. ARTIGO (1) EM INGLÊS.....</b>	<b>41</b>
<b>6. ARTIGO (1) EM PORTUGUÊS.....</b>	<b>63</b>
<b>7. ARTIGO (2) EM INGLÊS.....</b>	<b>83</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A doença de Paget na mama (DPM) foi descrita por *Sir James Paget* em 1874 <sup>1</sup>. Trata-se de uma doença infrequente, representando 0,5 a 4,3% de todos os casos de carcinoma mamário <sup>2</sup>.

Inicialmente, acreditava-se que o processo de malignização se originava nos ductos lactíferos progredindo até a epiderme, a chamada teoria epidermotrófica, o que explicaria o fato de aproximadamente 97% das pacientes com DPM apresentarem um carcinoma subjacente <sup>4-10</sup>. Além disso, na maioria dos casos, a característica imunofenotípica das células de Paget é a mesma do carcinoma associado <sup>11-13</sup>.

Achados imuno-histoquímicos apontam forte evidência a favor da teoria do epidermotropismo, pois mostram uma variedade de anticorpos monoclonais específicos, que foram expressos tanto no epitélio dos ductos da mama normal quanto nas células de Paget, não sendo expressos em outras células da epiderme.

Outra teoria, a chamada teoria da transformação intra-epitelial, propõe que as células de Paget proliferam na porção terminal dos ductos lactíferos, na junção com a epiderme. Estas são células epiteliais alteradas, que são transformadas dentro do próprio epitélio. Essa teoria explica o fato que raros casos de DPM não apresentam câncer de mama subjacente <sup>6,14-16</sup> ou nos casos em que a doença de Paget e o câncer são tumores distintos <sup>17</sup>.

A DPM ocorre mais freqüentemente em mulheres pós-menopáusicas, com maior incidência entre 60 e 70 anos de idade <sup>18</sup>. Ou seja, ocorre 5 a 10 anos mais tarde que o pico de incidência do carcinoma mamário <sup>18,19,10</sup>.

O diagnóstico da DPM é eminentemente clínico, e muitas vezes, os achados mamográficos são normais.

O diagnóstico pode ser obtido por raspado citológico, biópsia superficial da epiderme, biópsia incisional ou exérese do mamilo, com posterior exame anátomo-patológico.

Os marcadores moleculares são importantes tanto para esclarecer prognóstico como para a escolha da terapia adjuvante. Na DPM, estes ainda não tem sido tão bem caracterizados.

A hiperexpressão ou amplificação de HER2 é detectada em aproximadamente 20-30% dos casos de carcinomas ductais infiltrativos da mama, e tem sido relacionada à presença de tumores mais agressivos e com prognóstico desfavorável <sup>44</sup>. É extremamente alta a incidência de HER2 nas células de Paget associadas a carcinoma. A literatura relata em torno de 80% dos casos com positividade para HER2, sugerindo que esta oncoproteína possa promover proliferação celular tumoral intraepitelial <sup>51</sup>.

A DPM parece ser um verdadeiro marcador cutâneo de risco de um câncer glandular profundo, mas com o prognóstico ligado à agressividade do carcinoma subjacente. Sua histogênese e fatores de risco não foram elucidados por completo e, sendo uma doença rara, existem poucos estudos conclusivos.

A literatura mostra positividade de HER2 na DPM associada ao carcinoma, o que falaria a favor de um pior prognóstico. Conseguindo avaliar a expressão deste marcador molecular, talvez se possa contribuir para a elucidação de alguns aspectos do comportamento desta doença, para se alcançar uma melhor abordagem terapêutica.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. HISTÓRICO

A doença de Paget da mama (DPM) foi descrita por James Paget em 1874 <sup>1</sup> como uma doença incomum, que representa 0,5 a 4,3% de todos os casos de carcinoma mamário <sup>2</sup>.

Antes de Paget, em 1856, Velpeau descreveu a presença de lesão com crosta, sangramento e ulceração no complexo aréolo-papilar (CAP), mas não reconheceu a relação entre as suas observações e o câncer de mama subjacente <sup>3</sup>.

Então, em 1874, Paget publicou um estudo com 15 mulheres, que apresentavam inicialmente erupções eczematosas na papila e aréola, e que após dois anos de observação foram acometidas por um câncer na glândula mamária <sup>1</sup>. Assim, evidenciou a associação entre a lesão de pele do CAP e o câncer de mama subjacente, recebendo essa doença o seu nome, e o aspecto das células intra-epiteliais foram definidas como células de Paget.

### 2.2. ETIOPATOGENIA

Existem duas teorias para explicar a origem da DPM. A teoria epidermotrófica, descrita primeiramente por Jacobetis, que é a mais amplamente aceita, sugere que as células de Paget crescem nos ductos mamários e progridem ao longo dos sinusóides lactíferos até a epiderme do mamilo <sup>4-10</sup>. Essa teoria é baseada no fato que aproximadamente 97% das pacientes com DPM apresentam um carcinoma subjacente <sup>4-10</sup> e que na maioria dos casos, a característica imunofenotípica das células de Paget é a mesma do câncer de mama <sup>11-13</sup>.

A teoria da transformação intra-epitelial propõe que as células de Paget proliferem na porção terminal dos ductos lactíferos, na junção com a epiderme <sup>6</sup>. Trata-se de células epiteliais alteradas, que são transformadas dentro do próprio epitélio. Essa teoria é baseada no fato de que raros casos de DPM não apresentam câncer de mama subjacente <sup>6,14-16</sup> ou nos casos em que a doença de Paget e o câncer são tumores distintos <sup>17</sup>. Essa teoria presume que a DPM é um processo independente de qualquer carcinoma da mama subjacente <sup>18</sup>. Alguns estudos com microscopia eletrônica

demonstraram microvilosidades e ligação de desmossomas entre os queratinócitos e as células de Paget, achados que fariam contra a natureza migratória das células de Paget e sugerem uma origem epidérmica<sup>18</sup>. Essa teoria também explicaria os casos de DPM associada com carcinoma mamário distante do CAP<sup>18</sup>.

Embora seja mais aceita a teoria de que as células de Paget sejam originadas de um carcinoma subjacente<sup>19</sup>, a histopatogênese correta das células de Paget permanece controversa.

### 2.3. QUADRO CLÍNICO

A DPM ocorre mais freqüentemente em mulheres pós-menopáusicas, com maior incidência entre 60 e 70 anos de idade. Isso significa 5 a 10 anos mais tarde que o pico de incidência do carcinoma mamário<sup>10, 20, 21</sup>.

A maioria das mulheres apresenta alteração do CAP, mas 10 a 28% dos casos são identificados apenas na análise histológica do CAP das peças cirúrgicas de mastectomia, ou seja, não apresentam evidência de lesão clínica<sup>22</sup>.

Não existe nenhum fator clínico ou epidemiológico conhecido que comprovadamente seja relacionado à patogênese e a uma maior predisposição ao desenvolvimento da DPM. A literatura cita alguns casos especiais, como o aparecimento da DPM após 8 anos a mastectomia subcutânea por doença fibrocística<sup>23</sup> e em um caso de uma paciente de 35 anos com esclerodermia envolvendo a pele que apresentava DPM concomitante<sup>23</sup>.

As queixas clínicas mais comuns são prurido e ardência. Geralmente, pode se apresentar com eritema, que evolui para pele espessada, áspera e rugosa. Há o aparecimento de pequenas vesículas, que sofrerão erosão com exsudação serosa ou sanguinolenta. As primeiras manifestações podem ser insignificantes, e apresentam-se como vesículas pequenas que surgem e cicatrizam, recorrem ou progridem.

Normalmente, a lesão inicia na papila e vai espalhando-se para a aréola e, raramente, envolve a pele circunjacente. Evolui para ulceração à medida que ocorre infiltração de células neoplásicas na epiderme. Nesse estágio, uma secreção serosa ou sanguinolenta pode ser observada. Também nota-se retração mamilar, embora seja mais freqüente que essa retração se deva ao tumor subjacente.

Há três formas de apresentação ao exame clínico:

- apenas com alterações no CAP,
- alterações do CAP associadas a tumor palpável na mama,
- como doença subclínica, não se observando alterações no exame clínico e o diagnóstico sendo feito apenas pelo exame anátomo-patológico da peça cirúrgica de mastectomia.

Muitas vezes, por parecer uma lesão eczematóide comum, há relutância em acreditar que uma lesão aparentemente simples possa ser uma doença maligna, então, nesses casos, o diagnóstico pode ser retardado em até 10 a 12 meses <sup>4,8-10</sup>.

A apresentação bilateral é extremamente rara. Kijima e colaboradores relatam um caso de carcinoma de mama com DPM bilateral sincrônico <sup>24</sup>.

A DPM também pode ocorrer em homens, tendo sido citados apenas 51 casos até 1982 <sup>25</sup>. Ucar e colaboradores relataram um caso de DPM associado a carcinoma ductal infiltrante bilateral em um homem de 74 anos <sup>26</sup>. Embora o comportamento clínico no homem pareça ser semelhante ao observado na mulher, parece que os homens apresentam pior prognóstico, com uma taxa de sobrevida estimada de 20 a 30% em 5 anos <sup>25</sup>.

Aproximadamente 60 % dos casos de DPM apresentam massa palpável <sup>27</sup> e, nesses casos, frequentemente, a doença está associada a um carcinoma infiltrante <sup>4,10</sup>, tendo sido relatado comprometimento axilar em 45 a 66% <sup>5</sup>.

Nos casos com lesão clínica não palpável representa uma lesão não invasiva (CDIS) em aproximadamente 90% dos casos <sup>4,10</sup>. Pode-se observar até 40% de casos de associação com carcinoma invasor, na ausência de tumor palpável, com comprometimento axilar de 5 a 13% <sup>5</sup>.





Figura 1- Macrofotografia de um mamilo que demonstra ductos galactóforos com alterações características de DPM na epiderme .Fonte: Ortega JMG et al. Disponível na web em 24/09/2005 em [http://www.conganat.org/7congresso/final/vistalmpression.asp?id\\_t](http://www.conganat.org/7congresso/final/vistalmpression.asp?id_t)

A média de idade das pacientes que apresentam massa palpável foi descrita em um estudo <sup>9</sup> como significativamente menor (49 anos) se comparada às pacientes que não apresentam massa palpável (58 anos).

Em 30-50% dos casos o diagnóstico de carcinoma subjacente à DPM é concomitante, observando-se na palpação nódulo aderido à aréola ou mais distante, sugerindo carcinoma invasor, ou por exames de imagem, como mamografia, ultrassonografia ou ressonância magnética (RM) <sup>28</sup>.

James Paget, já na sua descrição original, referiu a possibilidade de formas extra-mamárias da doença de Paget <sup>1</sup>, podendo estar presente na vulva, região perianal, pálpebras, esôfago, canal auricular e cavidade oral, áreas onde se observam maior quantidade de glândulas apócrinas. As formas mamárias e extra-mamárias mostram muitas características clínico-patológicas semelhantes, mas mostram algumas diferenças, principalmente no que se refere à patogênese e à associação com malignidade subjacente. Ambas as formas apresentam células de Paget em meio à epiderme, fator patognomônico para o diagnóstico.

O diagnóstico diferencial deve ser feito com eczema crônico, dermatite de contato, dermatite actínica, cancro sífilítico, psoríase, melanoma maligno, papiloma

intraductal benigno, carcinoma de células basais, doença de Bowen (carcinoma intra-epitelial), ectasia ductal mamária, leiomiomas do mamilo, pênfigo vulvar e escabiose<sup>29-31</sup>.

Existe uma variante rara chamada DPM pigmentada, que pode simular clinicamente e no exame dermatoscópico um melanoma cutâneo, sendo diferenciada pela imuno-histoquímica<sup>32</sup>. A presença de receptores de estrogênio nos núcleos das células de Paget exclui o diagnóstico de melanoma<sup>30</sup>. A positividade para proteína S-100, HMB-45, Melan A e outros marcadores de melanoma confirmam a origem melanocítica da lesão. O estudo imuno-histoquímico para AE1/AE3 e para as citoqueratinas 8-18 é positivo na DPM, confirmando também a origem epitelial da lesão, já para a citoqueratina SAB-902 é negativo<sup>31,32</sup>.

Existe uma situação que requer uma atenção especial do mastologista que é o aparecimento de eczema suspeito no CAP após tratamento conservador de câncer de mama. Existe a possibilidade de uma recorrência ipsilateral manifestar-se clinicamente como DPM<sup>36</sup>. Menzies e colaboradores citaram 3 casos de recorrência local na forma de DPM, o que correspondeu a 8% do total das recorrências observadas<sup>37</sup>. Os 3 casos apresentavam diagnóstico inicial de CDIS<sup>37</sup>. Portanto, quando houver qualquer alteração no CAP, especialmente naquelas pacientes já tratadas por câncer de mama, deve-se prosseguir a investigação.

Existem três fatores importantes que determinam a má evolução das pacientes com DPM:

- presença de massa palpável na apresentação,
- presença de carcinoma invasor da mama subjacente e
- comprometimento axilar.

O prognóstico das pacientes com DPM sem massa palpável é melhor se comparado com àquelas com massa palpável, cita-se taxas de sobrevida entre 42 e 100% (média 85%) *versus* 0 a 43% (média 32%) em 5 anos, e 75 a 90% (média 80%) e 0 a 56% (média 31%) em 10 anos, respectivamente<sup>4,6</sup>. Estudos posteriores mostraram aumento nas taxas de sobrevida (90-100% vs 20-60% em 5 anos e 85-100% vs 9-60% em 10 anos, respectivamente)<sup>5,10</sup>. Esses resultados podem ser explicados pelo fato de que lesões sem massa palpável representam geralmente processos não invasivos e

intraepiteliais, enquanto uma lesão palpável é frequentemente associada com carcinoma invasivo.

Mulheres que apresentam massa palpável e achados mamográficos suspeitos têm significativamente piores taxas de sobrevida livre de doença quando comparadas com àquelas sem tumor palpável e mamografia normal (60% em 5 anos *versus* 90% em 5 anos) <sup>38</sup>.

#### **2.4. HISTOPATOLOGIA**

Na DPM há células do tipo adenocarcinoma dentro da epiderme do mamilo (Fig 2 e 3). Na análise deve ser excluída invasão da epiderme por tumor infiltrando a pele. O diagnóstico de DPM deve ser sempre incluído no laudo histopatológico. O carcinoma subjacente deve ser relatado separadamente.

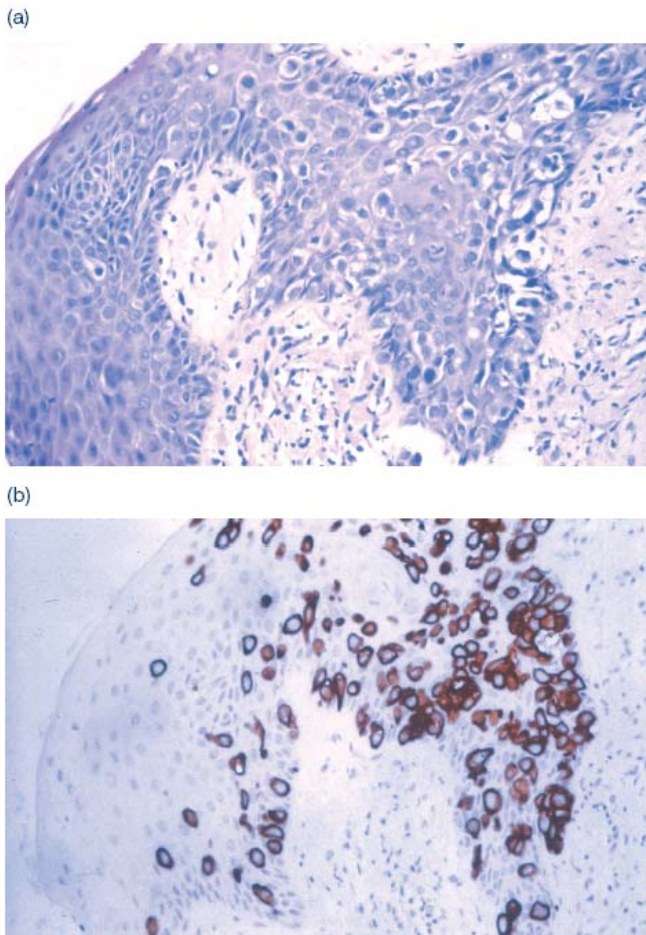


Figura 2 (a e b) DPM é associada com envolvimento de ductos do mamilo e se origina pela infiltração de células de CDIS de alto grau na epiderme do mamilo. Estas células podem ser demonstradas usando imunocoloração para citoqueratinas glandulares de baixo peso molecular (b). Fonte: NHS Cancer Screening Programmes. PATHOLOGY REPORTING OF BREAST DISEASE. NHS Cancer Screening Programmes jointly with The Royal College of Pathologists; 2005 p.59.

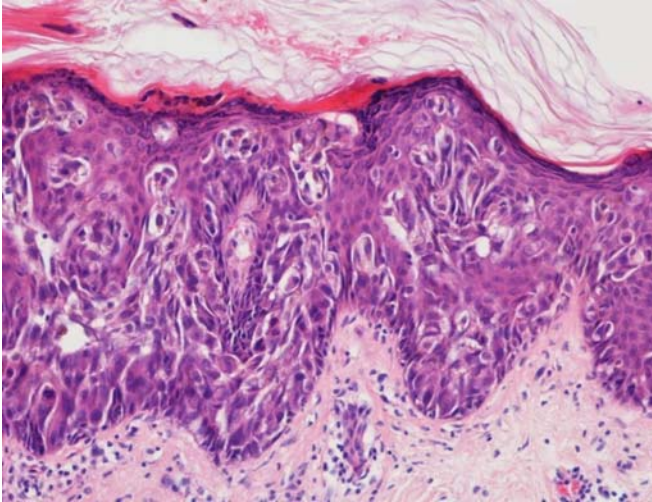


Figura 3- DPM mostrando pele da aréola com infiltração de células maiores (células de Paget) disseminadas e infiltrando o epitélio até a superfície. Os núcleos são pleomórficos e as células maiores que as normais. Na superfície vê-se o aspecto queratinizado esboçando crostas. H&E 200x. Fonte: NHS Cancer Screening Programmes. PATHOLOGY REPORTING OF BREAST DISEASE. NHS Cancer Screening Programmes jointly with The Royal College of Pathologists; 2005 p.59.

Os tumores mamários são classificados histologicamente de acordo com a Classificação Histológica da Organização Mundial da Saúde, modificada por Rosen e Obermann<sup>39</sup>. O grau tumor é determinado de acordo com Elston e Ellis<sup>39</sup>. Esse sistema é uma modificação do sistema de graduação proposto por Bloom e Richardson, em 1957. Na formação de túbulo, pleomorfismo nuclear e atividade mitótica, cada um é avaliado numa escala de 1 a 3. A soma dos resultados para esses três parâmetros fornece o grau histológico total; assim, tumores para os quais a soma dos resultados é de 3 a 5 são designados grau 1 (bem diferenciado), os com soma de 6 e 7 são designados grau 2 (moderadamente diferenciado) e aqueles cujo resultado somou 8 ou 9 são designados de grau 3 (pouco diferenciado)<sup>40</sup>. A invasão vascular peritumoral é avaliada conforme Rosen e Obermann<sup>39</sup>.

A classificação TNM dos tumores malignos da União Internacional contra o câncer (UICC), já na 6ª edição<sup>41</sup>, agrupa os casos de acordo com dados clínico-patológicos no momento do diagnóstico primário e tratamento cirúrgico loco-regional; é usada para selecionar pacientes e relatar os desfechos em ensaios clínicos,

possibilitando aos clínicos avaliar com base lógica se as estratégias de tratamento relatadas na literatura serão apropriadas para seus pacientes.

A DPM é classificada como Tis quando não apresenta tumor associado, ou quando está associada a um carcinoma *in situ*, e, nos casos em que está associada a um carcinoma invasor, será classificada conforme o componente invasor.

Aproximadamente 90% dos casos de DPM apresentam associação com carcinoma *in situ* ou carcinoma infiltrativo, podendo ser multifocal<sup>4</sup>. Raramente tem sido relatada associação com tipos especiais de carcinomas, como papilar e medular<sup>4</sup> ou carcinoma ductal surgindo em papilomatose florida (adenoma) do mamilo<sup>42</sup>. A DPM é uma manifestação muito rara do carcinoma lobular *in situ*<sup>42</sup>.

A DPM parece ser mais associada aos subtipos histológicos sólido e comedo carcinomas<sup>5</sup>. Estes subtipos são considerados biologicamente mais agressivos, com alto grau nuclear, alto índice de mitoses e amplificação do oncogene c-erbB2<sup>43,44</sup>. Também tem sido associada com extenso carcinoma *in situ*<sup>45</sup>.

Focos de carcinoma ductal com padrão cribriforme e papilar podem ser encontrados, mas os ductos lactíferos ligados diretamente à DPM contêm comedo carcinoma na maioria dos casos. Carcinoma cribriforme e papilar são vistos em cerca de 10% dos casos e em 40% dos casos associados a carcinoma intraductal<sup>15</sup>.

O carcinoma invasivo associado à DPM tipicamente é pouco diferenciado, do padrão sólido, e, raramente, se desenvolve na porção superficial ou terminal dos ductos lactíferos<sup>15</sup>.

Kothari relatou que 60% de todos os casos de DPM associados a carcinoma invasor eram grau III<sup>46</sup>, significando maior predisposição a metástases e pior prognóstico. Também relatou que 96,5% dos casos com carcinoma *in situ* subjacente eram de alto grau histológico<sup>46</sup>.

Nos casos em que se realiza a biópsia do linfonodo sentinela (BLS), pode ser feita a análise trans-operatória do linfonodo sentinela (LS), tendo cada instituição a sua rotina para a avaliação do mesmo. O Instituto Europeu de Oncologia, em Milão, na Itália (IEO) realiza uma média de 60 cortes para cada linfonodo.

No IEO os linfonodos sentinelas maiores que 5 mm são cortados a fresco no seu eixo maior e fixados em formalina 10% por 6 a 8 horas, antes de serem incluídos em parafina. Os linfonodos menores que 5 mm são incluídos inteiros. Quinze pares de

secções do preparado de parafina, de 4- $\mu$ m de espessura, são seccionados a intervalos de 50- $\mu$ m. Se persiste tecido residual, pares adicionais são seccionados a intervalos de 100- $\mu$ m até que o linfonodo seja inteiramente processado. Um corte de cada par é corado com hematoxilina e eosina (H&E). Quando necessário, para definir a natureza de células atípicas vistas nos cortes de H&E, o corte correspondente do par é testado para citoqueratinas usando um método rápido de processamento (EPOS Anti-cytokeratins/HRP; Dako, Copenhagen, Denmark) <sup>47</sup>.

Os linfonodos não-sentinelas são divididos pelos níveis de Berg. Estes são cortados se maiores 5 mm, incluídos totalmente e processados rotineiramente na parafina. Cada linfonodo é seccionado a intervalos de 100-500  $\mu$ m e 3 a 6 cortes corados com H&E são examinados.

## 2.5. IMUNO-HISTOQUÍMICA

A avaliação de receptores hormonais e da proliferação tumoral são realizadas pela técnica de imuno-histoquímica em cortes fixados em formalina e embebidos em parafina do tumor primário usando o sistema denominado de avidina-biotina-peroxidase <sup>47</sup>. Os anticorpos monoclonais para receptores de estrogênio e progesterona (Dako, Glostrup, Denmark) são usados na diluição de 1/100, e o anticorpo monoclonal anti-MIB-1 para antígeno Ki-67 (Immunotech, Marseilles, France) é usado na diluição de 1/200 <sup>47</sup>. Todos revelam marcação nuclear quando positivos.

Os marcadores moleculares são importantes tanto para esclarecer prognóstico como para a escolha da terapia adjuvante. Na DPM, os marcadores moleculares ainda não tem sido tão bem caracterizados como nos carcinomas invasores.

Achados imuno-histoquímicos apresentam forte evidência a favor da teoria do epidermotropismo, pois mostram uma variedade de anticorpos monoclonais específicos, que foram expressos tanto no epitélio dos ductos da mama normal quanto nas células de Paget, não sendo expressos em outras células da epiderme. Além disto, tem sido demonstrado que as células de Paget e o carcinoma de mama apresentam imunorreatividade à caseína, às globulinas do leite, às lecitinas, ao antígeno epitelial de membrana, ao antígeno carcinoembrionário, à proteína S-100 e à proteína HER2, mostrando que o carcinoma subjacente tem fenótipo similar às células de Paget.

### 2.5.1. HER2

O gene HER2 codifica uma proteína da membrana celular expressa em praticamente todas as células epiteliais, a qual constitui o receptor de tirosina-quinase, (conhecido também como C-erbB2 e HER2/neu), pertencente a mesma família do receptor do fator de crescimento epidérmico <sup>48</sup>. Slamon e colaboradores foram os primeiros a ligar a hiperexpressão do HER2 com mau prognóstico no câncer de mama. Eles estudaram a associação entre a amplificação do gene HER2 com a recorrência e morte em pacientes com axila positiva e demonstraram que a amplificação do HER2 estava significativamente associada com a taxa de recorrência e diminuição da sobrevida; sendo estas correlações independentes de outros fatores prognósticos, e tão significativas quanto o estado da axila para recorrência e morte.

O HER2 trata-se de um proto-oncogene localizado no cromossoma 17q21, que codifica uma glicoproteína transmembrana com atividade intrínseca de tirosina quinase homóloga ao receptor do fator de crescimento epidérmico. A proteína HER2, quando ligada aos fatores de crescimento tumoral, inicia uma cascata de reações que promove a divisão celular e, conseqüentemente, o crescimento tumoral <sup>49</sup>.

A hiperexpressão de HER2 é avaliada por imuno-histoquímica pelo Kit Dako Hercept- Test <sup>50</sup>. O resultado depende da intensidade da coloração das células na membrana citoplasmática e são descritos conforme segue abaixo <sup>51</sup>:

NEGATIVO- 0 ou 1+: significa que não houve reação das células da membrana (zero) ou ocorreu reação leve incompleta em menos de 10% das células (1+),

INDETERMINADO- 2+: significa que houve reação moderada completa em mais de 10% das células. O escore 2+ requer confirmação pelo exame de hibridização *in situ* (FISH ou CISH).

POSITIVO - 3+: significa que houve marcada reação completa em mais de 10% das células tumorais.

A hiperexpressão de HER2 é detectada em aproximadamente 20-30% dos casos de carcinomas ductais infiltrativos da mama, e tem sido relacionada a tumor mais agressivo e com prognóstico desfavorável <sup>44</sup>.



É extremamente alta a incidência de HER2 nas células de Paget associadas a carcinoma. A literatura relata em torno de 80% dos casos com positividade para HER2<sup>51</sup>, sugerindo que esta oncoproteína possa promover proliferação celular tumoral intraepitelial.

O HER2 é expresso em aproximadamente 20% dos carcinomas ductais invasivos, em 50% dos carcinomas ductais in situ e em mais de 90% dos casos de DPM<sup>44,52</sup>.

O HER2 é considerado um fator preditivo e prognóstico do câncer de mama. É considerado um fator preditivo por ser o alvo principal da terapia com Trastuzumabe, e um fator prognóstico por estar associado a maior agressividade tumoral<sup>49</sup>.

O estado do HER2 também prediz a resposta antiestrogênica e à quimioterapia citotóxica<sup>48</sup>, sendo que os pacientes com forte expressão de HER2 parecem ter uma pobre resposta aos agentes hormonais como tamoxifeno e também aos quimioterápicos não-antracíclicos<sup>53</sup>.

Acredita-se que a resistência a terapia hormonal tanto “in vitro” como “in vivo”, esta relacionada ao “bypass” do receptor de estrógeno pelo sinal do receptor do fator de crescimento. Dois grandes estudos com câncer primário de mama encontraram uma correlação significativa entre os níveis elevados de HER2 na circulação e baixos níveis de receptores de estrógenos e progesterona no tumor primário<sup>54,55</sup>.

Estudos mostram associações entre HER2 e uma variedade de outros marcadores de pior prognóstico, incluindo RE negativo, metástases nodais, maior tamanho tumoral, alto grau tumoral, tipos histológicos mais agressivos, tais como carcinoma inflamatório, ploidia de DNA aumentada, alta atividade mitótica e presença de metástases hematogênicas à distância<sup>56</sup>. A hiperexpressão de HER2 também está correlacionada com uma diminuição da sobrevida<sup>57,58</sup>.

A imunorreatividade ao HER2 leva a sugerir a hipótese de que há um fator de quimiotaxia, secretado nos queratinócitos, que atraem as células de Paget para a epiderme<sup>44</sup>.

A interpretação dos estudos que analisam a expressão do HER2 é limitada pela variabilidade de métodos empregados para detectar sua hiperexpressão. Os métodos usados podem identificar a expressão da proteína de membrana ou a própria

amplificação gênica <sup>49</sup>. As técnicas de imuno-histoquímica detectam a proteína, enquanto a técnica de Hibridização *in situ* (*Fluorescence In Situ Hybridization* – FISH), quando usada a imunofluorescência, ou Hibridização *in situ* cromogênica (*Chromogenic in situ hybridization*- CISH), quando usada a imuno-histoquímica, medem a amplificação gênica. Sabe-se que existe uma intensa correlação entre amplificação gênica e a hiperexpressão proteica <sup>49</sup>.

Fu e colaboradores, em um estudo com 19 pacientes com DPM, demonstraram que em 93,9% dos casos houve positividade de HER2 <sup>19</sup>. Enquanto Anderson e colaboradores mostraram 80% de positividade de HER2 nos casos de DPM, com 100% de concordância com o tumor subjacente tanto por imuno-histoquímica como pelo teste de FISH, com uma casuística de 20 pacientes <sup>51</sup>. (Figura 4)

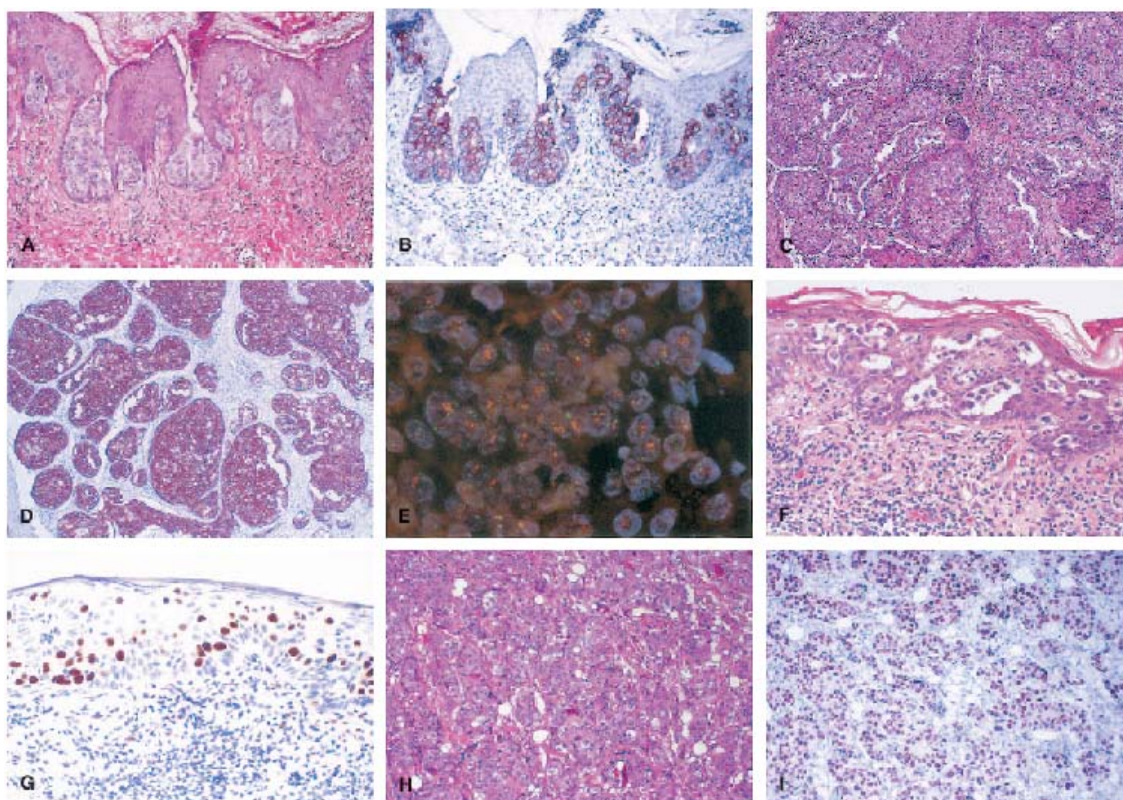


Figura 4: (A) DPM mostrando células carcinomatosas intra-epidérmicas, H&E 200x. (B) Marcada reação completa para HER2 por imuno-histoquímica (CISH), 200x. (C) Cortes de DPM com carcinoma invasor e carcinoma *in situ* moderadamente diferenciados, H&E 100x. (D) Moderada e difusa positividade de HER2 em carcinoma invasor e carcinoma *in situ*. 100x. (E) Amplificação de HER2 demonstrada por FISH, 100x. (F) DPM mostrando células intra-epidérmicas, H&E 200x. (G) Positividade dos receptores de estrogênio por imuno-histoquímica dentro das células neoplásicas, H&E 200x. (H) Carcinoma ductal invasor moderadamente diferenciado, H&E 100x. (I) Receptores de estrogênio positivos dentro das células neoplásicas por imuno-histoquímica, 100x.

Fonte: Anderson JM et al. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2003 Jun;11(2):120-4.

### 2.5.1. Receptores de estrogênio e progesterona

Sabe-se que a expressão dos receptores hormonais tem uma relação inversa com o grau histológico e prognóstico, isto é, tumores receptores de estrogênio positivos estão associados a baixos graus histológicos, e melhor prognóstico <sup>51</sup>.

A atividade de receptor de estrógeno observada no carcinoma subjacente também exibe características semelhantes às observadas nas células de Paget. Sugere-se, então, que as células de Paget e o carcinoma subjacente possam ser histológica e biologicamente semelhantes.

### **2.5.1. Ki-67**

O Ki-67 foi identificado por Gerdes e colaboradores em 1991<sup>59</sup>, como uma proteína nuclear. O gene Ki-67 encontra-se no braço longo do cromossomo 10 (10q25)<sup>60</sup>. A proteína Ki-67, medida por técnicas de imuno-histoquímica, é considerada um marcador de proliferação tumoral. A definição de pontos de corte para o Ki-67 varia entre os estudos, parecendo ser melhor considerá-lo como uma variável contínua<sup>61</sup>. A expressão de Ki-67 é usualmente estimada em percentual de células tumorais positivamente marcadas pelo anticorpo, com a marcação nuclear sendo o critério mais comum de positividade.

Alguns estudos estabeleceram o valor preditivo do Ki-67 no diagnóstico do câncer de mama: os escores de Ki-67 correlacionam-se com outros fatores prognósticos, como grau histológico tumoral, envolvimento de linfonodos, invasão angiovascular e expressão de receptores hormonais, com risco de recorrência, com resposta a terapia, com intervalo livre de doença e sobrevida geral<sup>62</sup>. Muitos estudos têm demonstrado a correlação entre Ki-67 e a expressão de HER2, que embora pareça ser positiva, ainda não está bem definida<sup>63</sup>.

## **2.6. DIAGNÓSTICO**

O diagnóstico da DPM é eminentemente clínico e característico, porém um estudo da imagem mamária através mamografia é fundamental para a pesquisa de microcalcificações, que são detectadas em aproximadamente 60% dos casos<sup>64</sup>.

Os achados mamográficos variam desde uma mamografia normal até a presença de nódulo suspeito em região retroareolar. Em vários estudos, quase metade das pacientes apresentavam mamografias normais<sup>64-69</sup>. A sensibilidade da mamografia na detecção de achados malignos é significativamente alta na presença de massa palpável (97%), mas torna-se extremamente baixa na ausência de massas palpáveis (50%)<sup>67</sup>.

Kothari e colaboradores descreveram 22% de mamografias normais, em 55 casos estudados. Dentre os achados considerados alterados, descreve microcalcificações em 44% dos casos, massa subjacente em 19%, aumento da espessura da pele na região mamilar em 19%, calcificações grosseiras em 19% e aumento de densidade focal da mama em 20% <sup>46</sup>. Nesse estudo a mamografia subestimou a verdadeira extensão do carcinoma subjacente em aproximadamente 43% de todos os casos <sup>46</sup>.

Stomper e colaboradores encontraram alterações mamográficas em apenas 3 de 25 casos de DPM (12%) <sup>68</sup>.

Portanto, a mamografia pode ser insuficiente para determinar a extensão da doença. A ultrassonografia deve ser considerada, especialmente naqueles casos em que a mamografia é normal.

A ressonância magnética é altamente sensível para a detecção de câncer de mama, e parece ter grande valor nos casos de DPM na pesquisa de tumores subjacentes <sup>28</sup>.

Em um estudo recente, Frei e colaboradores estudaram 9 casos de DPM que não apresentavam massa palpável, destas 6 apresentavam mamografias normais, e 3 apresentavam grupamentos de microcalcificações, que à patologia corresponderam a CDIS <sup>28</sup>. Em 8 pacientes (88%) a ressonância magnética do mamilo estava alterada <sup>28</sup>.

Pacientes com achados mamográficos benignos e sem tumor palpável podem se beneficiar com exames de imagem adicionais que podem detectar doença oculta. Recentes estudos têm demonstrado que a RM tem uma sensibilidade em detectar câncer de mama de 88 a 100% <sup>69,70</sup>. Especialmente nos casos de carcinoma in situ, a RM tem uma sensibilidade de 95% comparada com 70% da mamografia <sup>71</sup>. Então, para pacientes com tumores não palpáveis e achados mamográficos benignos, a RM pode auxiliar na seleção de pacientes que podem ser candidatos à cirurgia conservadora <sup>38</sup>.

A cintilografia mamária pode ser útil na avaliação das pacientes com DPM, mas seu real benefício ainda deve ser melhor estudado. Sabe-se que as células de Paget possuem forte captação do Tecnésio 99 MIBI, devido à alta proliferação e crescimento tumoral.

O diagnóstico pode ser obtido por raspado citológico. É possível reconhecer células carcinomatosas de Paget na citologia exfoliativa do CAP, mas esse método não

é adequado para diagnóstico definitivo de DPM, ou seja, quando os achados são negativos, não se exclui a doença, sendo considerado um método diagnóstico pouco sensível.

As células de Paget são células intra-epiteliais grandes redondas ou ovais, com abundante citoplasma claro, grandes núcleos pleomórficos e hipercromáticos, e discretos nucléolos. O uso de citologia com corantes confirmatórios para antígeno carcinoembrionário (CEA), mucina, ou HER2 tem sido sugerida para aumentar a acurácia desse método <sup>18</sup>.

Achados citopatológicos positivos confirmam o diagnóstico, entretanto, nos casos de citologia negativa, o diagnóstico definitivo será com o exame anátomo-patológico.

## 2.7. TRATAMENTO

Enquanto a origem das células de Paget permanece controversa, o tratamento também é discutível. Se as células de Paget se originam no epitélio do mamilo, a indicação de mastectomia em todas as pacientes com DPM não é uma unanimidade, especialmente naquelas sem massa palpável ou sem alterações mamográficas <sup>5,43</sup>. Já na teoria epidermotrófica, que considera a presença de um carcinoma subjacente da mama, podemos considerar a possibilidade de nodulectomia nos casos de massa palpável ou alteração mamográfica, e a mastectomia nos casos sem massa palpável e mamografia normal <sup>18</sup>. Essas opções terapêuticas devem ser discutidas pelas equipes cirúrgicas e oncológicas responsáveis pelo caso, sempre respeitando a opção da paciente.

A DPM tem sido considerada um marcador de um câncer de mama ipsilateral <sup>18</sup>, e por isto a mastectomia foi estabelecida como terapia padrão no tratamento dessa doença por muito tempo <sup>6,10</sup>.

O tratamento conservador tem sido considerado em casos selecionados de DPM. Cita-se ressecção parcial ou total do CAP, podendo ser associada à radioterapia, setorectomia central, também podendo ser associada à radioterapia, e apenas radioterapia, sem ressecção cirúrgica <sup>18,43</sup>. Então, aqueles casos de doença limitada ao CAP, pacientes idosas, pacientes sem condições clínicas, ou aquelas que se negam a realizar mastectomia, podem se beneficiar com tratamento conservador. Nesses casos,

deve-se seguir rigoroso controle com mamografia. Mastectomia seria indicada apenas para os casos de recorrência <sup>72-74</sup>.

Portanto, diante de uma lesão clínica e radiologicamente unifocal, podemos realizar quadrantectomia central com ressecção do CAP. Se as margens são livres, se procede com radioterapia. Se as margens são comprometidas, ou se houver evidência de multicentricidade na peça cirúrgica, devemos considerar mastectomia com biópsia de linfonodo sentinela.

Sabe-se que o prognóstico da DPM depende do estágio do câncer subjacente, então é mandatório determinar a natureza e a extensão deste antes de decidir o tipo de terapêutica cirúrgica a ser proposta para a paciente.

Alguns estudos sugerem o uso da radioterapia, sem ressecção cirúrgica, naquelas pacientes sem massa palpável ou alteração mamográfica, como tratamento para a DPM <sup>53</sup>. Fourquet relatou uma série de 20 pacientes com DPM limitada ao CAP tratadas com radioterapia, com uma taxa de 15% de recorrência local <sup>75</sup>. Stockdale relatou 16% de recorrência em 19 casos de DPM sem massa palpável ou alterações mamográficas tratados apenas com radioterapia após 5 anos de seguimento <sup>45</sup>.

O tratamento para a DPM deve seguir a mesma linha das outras formas de carcinoma de mama. Nos casos de carcinoma ductal *in situ* tratados com cirurgia conservadora, deve-se preconizar o uso de radioterapia, e não indicar a exérese do LS. Sendo esta, então, reservada para os casos de carcinoma ductal *in situ* extenso com indicação de mastectomia. Nos casos de carcinoma invasor, a BLS será indicada nos casos de axila clinicamente negativa e tumores com até 3 cm.

A BLS deve ser preconizada em todos os casos em que a axila é clinicamente negativa. Os linfonodos sentinelas podem ser identificados pela técnica radioguiada ou com o azul patente. Na primeira técnica, o radiofármaco é injetado na tarde anterior à cirurgia, ou na manhã da cirurgia. A técnica consiste na injeção de 5 a 10 MBq de tecnécio-99m ligado a partículas de albumina humana (diâmetro de 50 a 200 nm) diluídos em 0.2 ml de solução salina próximo ao tumor. A injeção é subdérmica nos casos de tumor superficial e peritumoral nos casos de lesão profunda. Subsequentemente se realiza linfoscintilografia da mama e da axila nas projeções anterior e oblíqua-anterior para determinar a exata posição do linfonodo sentinela. De 4 a 20 horas após a injeção do radiofármaco, a BLS será realizada durante a cirurgia

mamária. O probe envolto por uma capa estéril é usado para identificar o linfonodo sentinela radioativo, e facilitar a sua remoção<sup>47</sup>. A técnica com azul patente consiste na injeção peritumoral ou subareolar de 2 a 4 ml de azul patente, que após 5 a 10 minutos possibilita identificar o LS através da sua coloração azulada em contraste com o tecido adiposo circunjacente. Alguns vasos linfáticos também são visualizados na periferia e no hilo do linfonodo sentinela.

## 2.7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A DPM parece ser mais associada aos subtipos histológicos considerados biologicamente mais agressivos, o sólido e o comedo carcinomas<sup>5,67</sup>, que são relacionados a alto grau nuclear, alto índice de mitoses e amplificação do oncogene HER2<sup>43,44</sup>. A positividade de HER2 está relacionada a pior prognóstico, taxas de menor sobrevida livre de doença e de sobrevida geral<sup>51</sup>. Também tem sido associada com extenso carcinoma *in situ*, receptores hormonais negativos, alta taxa de proliferação celular, positividade de p53, parecendo servir para estratificar as pacientes em baixo e alto risco para recorrência<sup>45</sup>.

Muitos estudos mostram aumento de risco de recidiva e morte em pacientes com câncer de mama HER2 positivo<sup>49</sup> e resistência ao tamoxifeno tem sido relatada<sup>18</sup>. Gregory relatou que, pacientes com tumores HER2 positivo parecem, mais comumente, não apresentar resposta à quimioterapia<sup>76</sup>. A positividade de HER2 também tem sido relacionada à resistência a quimioterapia com CMF<sup>52,77</sup> e às melhores taxas de resposta com esquemas quimioterápicos com adriamicina<sup>77</sup>.

Há relatos que 60% de todos os casos de DPM associados a carcinoma invasor são grau III<sup>46</sup>, significando maior predisposição a metástases e pior prognóstico. Também observamos que 96,5% dos casos com carcinoma *in situ* subjacente são de alto grau histológico<sup>46</sup>.

O conhecimento da expressão dos receptores hormonais, de HER2 e de Ki-67 na DPM pode ser útil na decisão das estratégias terapêuticas, principalmente naqueles pacientes com doença recorrente.



### 3. OBJETIVOS

#### **3.1. OBJETIVOS GERAIS**

Este estudo tem o objetivo de avaliar a expressão imuno-histoquímica dos receptores hormonais, HER2 e Ki-67 nos casos de DPM associada a carcinoma infiltrativo e a carcinoma intraductal, e avaliar a sobrevida e a recidiva local em pacientes operadas no IEO.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Descrever os aspectos clínicos e histopatológicos, bem como as formas de tratamento nas pacientes do IEO.

Avaliar a sobrevida global, a sobrevida livre de doença e as taxas de recidiva local nas mesmas pacientes.

#### 4. REFERÊNCIAS

1. Paget J. On disease of the mammary areola preceding cancer of the mammary gland. *St. Barts Hospital Rep* 1874; 10:87.
2. Fu W, Mittel VK, Young SC. Paget Disease of the Breast: Analysis of 41 Patients. *Am J Clin Oncol* 2001; 397-400.
3. Velpeau S. *Treatise on diseases of the breast and mammary region*. London: Sydenham Society 1856.
4. Ashikari R, Park K, Huvos AG *et al*. Paget's disease of the nipple. *Cancer* 1970; 26: 680-685.
5. Chaudary MA, Millis RR, Lane B *et al*. Paget's disease of the nipple: a 10-years review including clinical, pathological and immunohistochemical findings. *Breast Cancer Res Treat* 1986; 8: 139-146.
6. Nance FC, DeLoach DH, Welsh RA *et al*. Paget's disease of the breast. *Ann Surg* 1970; 171: 864-874.
7. Inwang ER, Fentiman IS. Paget's disease of the nipple. *Br J Hosp Med* 1990; 44: 392-395.
8. Jamali FR, Ricci A, Deckers PJ. Paget's disease of the breast. *Am J Surg* 1970; 76: 365-381.
9. Kister A, Haagensen C. Paget's disease of the breast. *Am J Surg* 1970; 119: 606-609.
10. Paone J, Baker R. Pathogenesis and treatment of Paget's disease of the breast. *Cancer* 1981; 48: 825-829.
11. Jahn H, Osther P, Nielsen E, Rasmussen G, Anderson J. An electron microscopic study of clinical Paget's disease of the nipple. *APMIS* 1995; 103: 628.
12. Cohen C, Guarner J, DeRose PB. Mammary Paget's disease and associated carcinoma: an immunohistochemical study. *Arch Pathol Lab Med* 1993; 117: 291.
13. Wood W, Hegodus C. Mammary Paget's disease and intraductal carcinoma: histologic histochemical and immunocytochemical comparison. *Am J Dermatopathol* 1988; 10: 183.
14. Sagebiel RW. Ultrastructural observations on epidermal cells in Paget's disease of the breast. *Am J Pathol* 1969; 57: 49.

15. Rosen PP, Oberman HÁ. Atlas of tumor pathology: tumors of the mammary gland. Third series. Vol. 7. Armed Forces Institute of Pathology. Washington: Fasciclez, 1993: 266.
16. Jones RE Jr. Mammary Paget's disease without underlying carcinoma. *Am J Dermatopathol* 1985; 7: 361.
17. Muir R. Further observations on Paget's disease of the nipple. *J Pathol Bacteriol* 1939; 49: 299.
18. Sakorafas GH, Blamchard K, Sarr MG, Farley DR. Paget's disease of the breast: a clinical perspective. *Langenbecks Arch Surg* 2001 Nov; 386(6):444-50. Epub 2001 Oct 17. Review.
19. Fu W, Loboeki CA, Silberberg BK, Chelladurai M, Yong SC. Molecular Markers in Paget Disease of the Breast. *J Surg Oncol* 2001 Jul; 77(3):171-8.
20. Jamali FR, Ricci A, Deckers PJ. Paget's disease of the nipple-areola complex. *Surg Clin North Am* 1996; 76: 365-381.
21. Kister A, Haagensen C. Paget's disease of the breast. *Am J Surg* 1970; 119: 606-609.
22. Mendez-Fernandez MA, Henly WS, Geis RC, Schoen FJ, Hausner RJ. Paget's disease of the breast after subcutaneous mastectomy and reconstruction with a silicone prosthesis. *Plast Reconstr Surg* 1980; 65:683–685.
23. Suster S, Ronnen M, Huszar M, Bubis JJ. Paget's disease of the breast with underlying carcinoma arising in systemic scleroderma. *J Dermatol Surg Oncol* 1988; 14:648–650.
24. Kijima Y, Owaki T, Yoshinaka H, Aikou T. Synchronous bilateral breast cancer with Paget's disease and invasive ductal carcinoma: report of a case. *Surg Today*. 2003;33(8):606-8.
25. Holloway KB, Ramos –Caro FA, Flowers FP. Paget's disease of the breast in a man with neurofibromatosis. *Int J Dermatol* 1997; 36: 604-18.
26. Ucar AE, Korukluoglu B, Ergul E, Aydin R, Kusdemir A. Bilateral paget disease of the male nipple: First report. *Breast* 2007 Dec 31; [Epub ahead of print]

27. Ordonez NG, Awalt H, Mackay B. Mammary and extramammary Paget's disease. An immunocytochemical and ultrastructural study. *Cancer* 1987; 59:1173–1183.
28. Frei K, Bonel H, Pelte M, Hylton N, Kinkel K. Paget disease of the breast: findings at magnetic resonance imaging and histopathologic correlation. *Invest Radiol* 2005; 40: 363-367.
29. Lundquist K, Kohler S, Rouse RV. Intrepidermal cytokeratin 7 expression is not restricted to Paget cells but is also seen in Toker cells and Merkel cells. *Am J Surg Pathol* 1999;23:212-219.
30. Miller L, Tyler W, Maroon M, Miller OF. Erosive adenomatosis of the nipple: a benign imitator of malignant breast disease. *Cutis* 1997; 59:91-92.
31. Haier J, Haensch W, Schon M. Liomyoma as a rare diagnosis of Paget's disease of the nipple. *Acta Obstret Gynecol Scand* 1997; 76:490-491.
32. Longo C, Fantini F, Cesinaro AM, Bassoli S, Seidenari S, Pellacani G. Pigmented mammary Paget disease: dermoscopic, in vivo reflectance-mode confocal microscopic, and immunohistochemical study of a case. *Arch Dermatol* 2007 Jun;143(6):752-4.
33. Tani EM, Skoog L. Immunocytochemical detection of estrogen receptors in mammary Paget cells. *Acta Cytol* 1988; 23:825–828.
34. Boneti F, Colombari R, Manfrin R. Breast carcinoma with positive results from melanoma marker (HMB-45). *Am J Clin Pathol* 1998;150:539-43.
35. Dwarakanath S, Lee AKC, DeLellis RA, Siverman ML, Frasca ML, Wolfe HJ. S-100 protein positivity in breast carcinomas: a pagetoid pitfall in diagnostic immunohistochemistry. *Hum Pathol* 1987;18:1144-48.
36. Schmitt SJ, Conolly J, Khettry U et al. Pathologic findings on re-excision of the primary site in breast cancer patients considered for treatment by primary radiation therapy. *Cancer* 1987;79:675-681.
37. Menzies D, Barr L, Ellis H. Paget's Disease of the nipple occurring after local incision and radiotherapy for carcinoma of the breast. *Eur J Surg Oncol* 1989;15:271-273.
38. Zacaria S, Pantvaidya G, Ghosh K, Degnim AC. Paget's disease of the breast: accuracy of preoperative assessment. *Breast Cancer Res Treat* 2007 Apr;102(2):137-42.

39. Veronesi U, Paganelli G, Viale G, Galimberti V, Luini A, Zurrada S, Robertson C, Sacchini V, Veronesi P, Orvieto E, De Cicco C, Intra M, Tosi G, Scarpa D. Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer: results in a large series. *J Natl Cancer Inst* 1999 Feb 17;91(4):368-73.
40. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. C. W. Elston & I. O. Ellis. *Histopathology* 1991;19: 403-410. *Histopathology* 2002 Sep;41(3A):151.
41. Singletary SE, Connolly JL. Breast cancer staging: working with the sixth edition of the AJCC Cancer Staging Manual. *CA Cancer J Clin* 2006 Jan-Feb;56(1):37-47.
42. Rosen PP, Caicco J. Florid papillomatosis of the nipple: a study of 51 patients including nine having mammary carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1986; 10:87–101.
43. Lagios MD, Westdahl PR, Rose MR, Concannon S. Paget's disease of the nipple. Alternative management in cases without or with minimal extent of underlying breast carcinoma. *Cancer* 1984; 54: 545-551.
44. De Potter CR. The neu-oncogene: more than a prognostic indicator? *Hum Pathol* 1994 Dec;25(12):1264-8.
45. Stockdale AD, White WF, Brierley JD, Folkes A, Rostom AY. Radiotherapy for Paget's disease of the nipple. A conservative alternative. *Lancet* 1989;2:664-666.
46. Kothari AS, Beechey-Newman N, Hamed H, Fentiman IS, D'Arrigo C, Hanby AM, et al. Paget disease of the nipple: a multifocal manifestation of higher-risk disease. *Cancer* 2002 Jul 1;95(1):1-7.
47. Intra M, Zurrada S, Maffini F, Sonzogni A, Trifirò G, Gennari R, Arnone P, Bassani G, Opazo A, Paganelli G, Viale G, Veronesi U. Sentinel lymph node metastasis in microinvasive breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2003 Dec;10(10):1160-5.
48. Munster PN, Norton L. Predictive factor for the response to adjuvant therapy with emphasis in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2001;3(6):361-4.
49. Boff RA e Wisintainer F: Mastologia Moderna – Abordagem Multidisciplinar. Ed. Mesa Redonda Ltda, 2006.
50. Tagliabue E, Agresti R, Casalini P, Mariani L, Carcangiu ML, Balsari A, Veronesi U, Ménard S. Linking survival of HER2-positive breast carcinoma patients with surgical invasiveness. *Eur J Cancer* 2006 May;42(8):1057-61.

51. Anderson JM, Ariga R, Govil E, Bloom KJ, Francescatti D, Reddy VB, Gould VE, Gattuso P. Assessment of Her-2/Neu status by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization in mammary Paget disease and underlying carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2003 Jun;11(2):120-4.
52. Schelfhout VR, Coene ED, Delaey B *et al.* Pathogenesis of Paget's disease: epidermal heregulin-alpha, motility factor, and the HER receptor family. *J Natl Cancer Inst* 2000 Apr 19;92(8):622-8.
53. Al-Moundhri M, Nirmala V, Al-Mawaly K, Ganguly S, Burney I, Rizvi A, Grant C. Significance of p53, Bcl-2, and HER-2/neu protein expression in Omani Arab females with breast cancer. *Pathol Oncol Res.* 2003;9(4):226-31.
54. Fehm T, Maimonis P, Weitz S, Teramoto Y, Katalinic A, Jäger W. Influence of circulating c-erbB-2 serum protein on response to adjuvant chemotherapy in node-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 1997 Mar;43(1):87-95.
55. Molina R, Jo J, Zanón G, Filella X, Farrus B, Muñoz M, Latre ML, Pahisa J, Velasco M, Fernandez P, Estapé J, Ballesta AM. Utility of C-erbB-2 in tissue and in serum in the early diagnosis of recurrence in breast cancer patients: comparison with carcinoembryonic antigen and CA 15.3. *Br J Cancer* 1996 Oct;74(7):1126-31.
56. Osborne CK, Schiff R, Arpino G, Lee AS, Hilsenbeck VG. Endocrine responsiveness: understanding how progesterone receptor can be used to select endocrine therapy. *Breast* 2005 Dec;14(6):458-65.
57. Beenken SW, Grizzle WE, Crowe DR, Conner MG, Weiss HL, Sellers MT, Krontiras H, Urist MM, Bland KI. Molecular biomarkers for breast cancer prognosis: coexpression of c-erbB-2 and p53. *Ann Surg* 2001 May;233(5):630-8.
58. Slamon DJ. Proto-oncogenes and human cancers. *N Engl J Med* 1987 Oct 8;317(15):955-7.
59. Gerdes J, Li L, Schlueter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Gerlach C, Stahmer I, Kloth S, Brandt E, Flad HD. Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. *Am J Pathol* 1991 Apr;138(4):867-73.
60. Fonatsch C, Duchrow M, Rieder H, Schlüter C, Gerdes J. Assignment of the human Ki-67 gene (MK167) to 10q25-qter. *Genomics* 1991 Oct;11(2):476-7.

61. Urruticoechea A, Smith IE, Dowsett M. Proliferation marker Ki-67 in early breast cancer. *J Clin Oncol* 2005 Oct 1;23(28):7212-20.
62. Lehr HA, Hansen DA, Kussick S, Li M, Hwang H, Krummenauer F, Trouet S, Gown AM. Assessment of proliferative activity in breast cancer: MIB-1 immunohistochemistry versus mitotic figure count. *Hum Pathol* 1999 Nov;30(11):1314-20.
63. Nicholson RI, McClelland RA, Finlay P, Eaton CL, Gullick WJ, Dixon AR, Robertson JF, Ellis IO, Blamey RW. Relationship between EGF-R, c-erbB-2 protein expression and Ki67 immunostaining in breast cancer and hormone sensitivity. *Eur J Cancer* 1993;29A(7):1018-23.
64. Sawyer RH, Asbury DL. Mammographic appearances in Paget's Disease of the Breast. *Clin Radiol* 1994; 49:185-188.
65. Ceccherini AFA, Evans AJ, Pinder SE et al. Is ipsilateral mammography worthwhile in Paget's Disease of the Breast? *Clin Radiol* 1996;51:35-38.
66. Rickard MT, Selopranoto US. Paget's Disease of the Breast: what the radiologist may expect to find. *Australasia Radiol* 1995;39:27-30.
67. Ikeda DM, Helvie MA, Frank TS et al. Paget Disease of the nipple: radiologic-pathologic correlation. *Radiology* 1993;189:89-94.
68. Stomper P, Penetrante R, Carson W. Sensitivity of mammography on patients with Paget's Disease of the nipple. *Breast Dis* 1995;8:173-178.
69. Gundry KR. The application of breast MRI in staging and screening for breast cancer. *Oncology (Williston Park)* 2005 Feb;19(2):159-69; discussion 170, 173-4, 177. Review.
70. Teifke A, Hlawatsch A, Beier T et al. Undetected malignancies of the breast: dynamic contrast-enhanced MR imaging at 1.0 T. *Radiology* 2002 Sep;224(3):881-8.
71. Soderstrom CE, Harms SE, Copt DS et al. Three-dimensional RODEO breast MR imaging of lesions containing ductal carcinoma in situ. *Radiology* 1996 Nov;201(2):427-32.
72. Pierce LJ, Haffty BG, Solin LJ, McCormick B, Vicini FA, Wazer DE, et al. The conservative management of Paget's disease of the breast with radiotherapy. *Cancer* 1997 Sep 15;80(6):1065-72.

73. Bijker N, Rutgers EJT, Duchateau L, Peterse JL, Julien JP, Cataliotti L, *et al.* Breast-conserving therapy for Paget disease of the nipple: a prospective European Organization for Research and Treatment of Cancer study of 61 patients. *Cancer* 2001 Feb 1;91(3):472-7.
74. Marshall J, Griffith K, Haffty B, Solin LJ, Vicini FA, McCormick B, Wazer DE, Recht A, Pierce LJ. Conservative management of Paget disease of the breast with radiotherapy. *Cancer* 2003;97:2142-2149.
75. Fourquet A, Campana F, Vielh P *et al.* Paget's disease of the nipple without detectable breast tumor: conservative management with radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1987; 13:1463-1465.
76. Wolber RA, Dupuis BA, Wick MR. Expression of c-erbB-2 oncoprotein in mammary and extramammary Paget's disease. *Am J Clin Pathol* 1991 Aug;96(2):243-7.
77. Meissner K, Riviere A, Haupt G, Loning T. Study of neu-protein expression in mammary Paget's disease with and without underlying breast carcinoma and in extramammary Paget's disease. *Am J Pathol* 1990 Dec;137(6):1305-9.