UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

Deise Louise Bohn Rhoden

Classificação por imunoistoquímica e comparação de fatores prognósticos no câncer de mama em pacientes jovens e idosas de um serviço de patologia do sul do Brasil.

Porto Alegre
2016

Deise Louise Bohn Rhoden

Classificação por imunoistoquímica e comparação de fatores prognósticos no câncer de mama em pacientes jovens e idosas de um serviço de patologia do sul do Brasil.

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Galleano Zettler

Porto Alegre
2016

Catalogação na Publicação

Rhoden, Deise Louise Bohn
Classificação molecular por imunoistoquímica e comparação de fatores prognósticos no câncer de mama em pacientes jovens e idosas de um serviço de patologia do sul do Brasil / Deise Louise Bohn Rhoden. -- 2016.
57 p. : tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Patologia, 2016.

Orientador(a): Cláudio Galleano Zettler.

1. câncer de mama. 2. pacientes jovens. 3. Fatores prognósticos. 4. classificação molecular. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Agradecimentos

Aos meus pais Luiz e Marli, pela criação e incentivo ao estudo e a buscar uma vida melhor;

À minha madrinha Isolde, por me permitir ter duas mães aqui na terra e ser a grande mentora de onde cheguei;

Aos meus irmãos Rodrigo e Cristiane, pela parceria, amizade, torcida pelo meu futuro e por estarem sempre disponíveis;

Aos meus sobrinhos Leonardo e Luiza (a caminho!), por me ensinarem muito sobre o que realmente importa e indiretamente me estimularem a ser uma pessoa melhor;

Ao meu professor e orientador Cláudio Zettler, pela oportunidade, apoio, incentivo incondicional à vida acadêmica e especialmente por ter me ajudado muito em uma das decisões profissionais mais difíceis que tomei até hoje;

Ao Gustavo, por todo o carinho, ajuda e especialmente pela paciência em momentos complicados;

À Bebete, por cuidar tão bem de mim e das minhas pequenas me dando tranquilidade para trabalhar e estudar;

A Deus, ...por existir.

Sumário

Lista de abreviaturas utilizadas

GH: Grau Histológico

GN: Grau Nuclear

INCA: Instituto Nacional do Câncer

ISCMPA: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

RE: Receptores de Estrogênio

RH: Receptores Hormonais

RP: Receptores de Progesterona

TN: Triplo-negativo

TNM: Tamanho do Tumor (T), Avaliação dos Linfonodos (N), Metástases (M)

WHO: Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization*)

CK: Citoqueratina

Resumo da dissertação:

Introdução:

O câncer de mama é cada vez mais entendido como uma doença heterogênea. Neoplasias de morfologia semelhante podem apresentar perfis moleculares diferentes, não detectáveis pelo exame histopatológico convencional. Apesar de terem somente até 7% de todos os casos de carcinoma mamário, as pacientes jovens apresentam características e prognostico distinto das pacientes na pós menopausa.

Objetivos:

O objetivo do presente trabalho é descrever as características do carcinoma primário da mama nas pacientes jovens e idosas diagnosticadas no Laboratório de Patologia do Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre no período de 1º de Março de 2013 a 1º de Março de 2016 e estabelecer correlações entre estes diferentes grupos etários.

Material e Métodos:

Foram examinados todos os resultados anatomo-patológicos de carcinomas primários de mama diagnosticados pelo Laboratório de Citologia e Patologia da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre com seus respectivos exames imunoistoquímicos no período de 1º de Março de 2013 a 1º de Março de 2016. A classificação molecular e os fatores prognósticos: tamanho tumoral, grau e tipo histológico e comprometimento axilar foram analisados e comparados aplicando-se o teste do Qui-quadrado ou o teste exato de Fisher para comparação entre as pacientes jovens e idosas. A razão de chances foi utilizada para indicar a magnitude das diferenças existentes. Para as variáveis

numéricas, com distribuição não normal, foi utilizado teste U de Mann-Whitney para comparação entre os grupos.

Resultados:

Foram selecionadas, no total, 286 pacientes, sendo 61 pacientes com idade ≤ 35 anos e 225 com idade ≥ 65 anos. Observamos que as pacientes jovens tiveram uma probabilidade 7,73 vezes maior de possuir o imunofenótipo HER-2 que as idosas e respectivamente 6,76; 5,58 e 2,21 vezes maior de possuírem os imunofenótipos Luminal-HER2; Basal e Luminal B. Também constatamos que as pacientes jovens apresentaram uma chance 7,83 vezes maior de apresentar carcinomas com grau histológico 3 em relação às idosas. Identificamos ainda, que as pacientes jovens exibiram um tamanho tumoral maior, e uma porcentagem maior de acometimento axilar, porém estas duas últimas variáveis não foram estatisticamente significativas.

Conclusões:

Nossos resultados, de um modo geral, mostraram que os carcinomas mamários nas pacientes jovens apresentam características histológicas, classificação molecular e prognóstico mais agressivos do que as pacientes idosas corroborando com dados de outros estudos já publicados na literatura.

Palavras-chave: Breast cancer, Prognostic factors, Age groups, Young patients.

1. Introdução

Apesar dos avanços nas pesquisas, o câncer de mama é ainda a neoplasia maligna que mais acomete mulheres em todo o mundo, excetuando-se o câncer de pele não-melanoma. Globalmente, cerca de 1,4 milhões de casos novos são diagnosticados por ano (INCA, 2016).

Características como idade, etnia, estilo de vida, hábitos alimentares, mudança nos fatores reprodutivos, história familiar, presença de mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 e utilização de reposição hormonal são fatores que interferem no diagnóstico e desenvolvimento do câncer de mama (Voguel, 2008).

Esperam-se, para o Brasil, no ano de 2016, 52.680 casos novos da neoplasia, com risco estimado de 52 casos a cada 100 mil mulheres. Em quatro, das cinco regiões brasileiras, é o tipo mais comum entre as mulheres, sem considerar os tumores da pele não-melanoma: Sudeste (69/100 mil), Sul (65/100 mil), Centro-Oeste (48/100 mil) e Nordeste (32/100 mil). Na Região Norte, é o segundo tumor mais incidente (19/100 mil), ficando atrás apenas do câncer do colo do útero (23/100 mil) (INCA, 2016).

Além de ser a neoplasia de maior incidência, é também a principal causa de óbito por câncer em mulheres, com coeficiente de mortalidade por idade ascendente ao longo dos anos (INCA,2016).

O prognóstico da doença é tido como relativamente bom, desde que diagnosticado precocemente. Na população mundial, a sobrevida média em cinco anos é de 98% para casos de doença restrita a mama e de 89,4% nos casos de câncer de mama com extensão aos linfonodos regionais. Em nosso país, as taxas de sobrevida são inferiores, fato que é atribuído principalmente pela demora no diagnóstico e o alto número de casos avançados na ocasião do início do tratamento (Buitrago e cols., 2011; WHO, 2012; INCA, 2016).

O câncer de mama é cada vez mais entendido como uma doença heterogênea. Neoplasias de morfologia semelhante podem apresentar perfis moleculares diferentes, não detectáveis pelo exame histopatológico convencional. Especula-se que cada tumor seja único e que seus conteúdos de DNA sejam individualmente distintos, mas métodos moleculares permitem agrupá-los em função de suas semelhanças genéticas (Perou e cols., 2000; Barros e Leite, 2015).

A classificação molecular dos carcinomas de mama procurou organizar os tumores em grupos de acordo com a expressão gênica permitindo, muitas vezes, predizer a evolução dos subtipos de tumores de mama baseado em seu fenótipo molecular. Realizar a classificação molecular por microarranjos de DNA constitui uma tarefa complexa de análise de expressão gênica, o que dificulta sua implementação na prática diária. Uma classificação análoga, aproximada por imunoistoquímica, porém imprecisa, torna-se bem mais factível. O estudo imunoistoquímico, através de painéis de anticorpos selecionados, demonstra uma boa correlação com os perfis definidos através de expressão gênica (Elston e Ellis, 1991; Perou e cols., 2000).

Com relação à idade, a doença afeta todas as faixas etárias, desde relatos de casos em crianças, até na senilidade. A incidência de tumores de mama é relativamente rara antes dos 35 anos, aumentando rápida e prograssivamente após esta idade. Cerca de 6,5% dos casos desta neoplasia ocorrem em mulheres com menos de 40 anos e 0,6%, em mulheres com menos de 30 anos (INCA, 2016).

A idade é, com frequência, mencionada como um fator independente de mau prognóstico, embora esta conclusão não seja reconhecida e acreditada por todos os autores. Uma das características que corrobora para um pior prognóstico nas pacientes jovens é que, com frequência, estas apresentam neoplasia de grau histológico mais alto do que as pacientes idosas. Além disso, as pacientes jovens costumam apresentar índices de proliferação celular (que pode ser mensurado pelo marcador imunoistoquímico Ki-67) mais alto (Han e cols., 2004; Aebi e Castiglione, 2006; Clagman e cols.,2008; Garicochea e cols., 2009 Pollán e cols., 2010; Keegan e cols., 2012;).

Considera-se fator prognóstico um determinado parâmetro mensurado por ocasião do diagnóstico e que pode ser utilizado como preditor de sobrevida ou do tempo livre de doença (Eisenberg e Koifmann, 2000; Clark, 2002). Neste trabalho foram relacionados quatro fatores prognósticos: tamanho do tumor, grau histológico, tipo histológico e status do acometimento linfonodal.

1.1. Classificação histológica dos carcinomas invasivos da mama

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2012), os carcinomas invasivos da mama são classificados como tipo não especial e tipo especial. O carcinoma de tipo não especial se refere ao dito carcinoma ductal sem outra especificação. Com relação ao tipo histológico, vários estudos demonstram que o carcinoma ductal infiltrante é o mais prevalente tanto nas pacientes jovens quanto nas pacientes idosas. Estima-se que responda por 50 a 75% dos casos. Estudos têm demonstrado também que o carcinoma ductal infiltrante apresenta pior prognóstico em relação ao lobular.

Os carcinomas mamários de tipo especial incluem aqueles que apresentam características arquiteturais ou citológicas peculiares que permitem classificá-los de forma separada. Dentre eles estão o lobular, mucinoso, metaplásico, cribriforme, tubular, papilar e micropapilar, neuroendócrino e medular (WHO, 2012; Sinn e Kreipe, 2013).

O carcinoma lobular da mama representa o segundo tipo mais frequente de neoplasia maligna mamária, respondendo por 5 a 15% dos casos. Estudos têm demonstrado também que o carcinoma ductal infiltrante apresenta pior prognóstico em relação ao lobular de modo geral.

Os carcinomas lobulares mamários podem ainda ser subclassificados como de tipos clássico ou em variantes: sólida, pleomórfica, alveolar, tubulopapilar ou mista. É conhecido que as variantes apresentam prognósticos diferentes em relação aos carcinomas de tipo clássico, razão pela qual optou-se por utilizar apenas os casos de carcinoma lobular clássico neste estudo (WHO, 2012; Sinn e Kreipe, 2013).

1.2. Tamanho tumoral

O tamanho do tumor juntamente com o status dos linfonodos axilares são os dois fatores prognósticos mais importantes para os carcinomas mamários, tanto que, constituem a base do estadiamento TNM estabelecido e promulgado pela União Internacional Contra o Câncer (Carter e cols., 1989). Com o surgimento e difusão dos métodos de imaginologia, em especial, a mamografia, vem se observando uma diminuição gradual dos tumores na ocasião do diagnóstico, permitindo, inclusive, o planejamento de cirurgias mais conservadoras (quadrantectomias ou setorectomias). Estudos revelam que a mamografia, quando empregada adequadamente, reduz a mortalidade em 20 a 35% nas mulheres entre 50 e 69 anos (Elmore e cols., 2005).

Sabe-se, também, que o tamanho do tumor está diretamente ligado a probabilidade de recidiva, sendo que, não havendo comprometimento metastático dos linfonodos, o tamanho do tumor torna-se o melhor preditor desta recidiva (Fischer e cols., 1969; Palmer e cols., 1982; Abreu, 2002; Alvarenga, 2014). Pode-se afirmar ainda, que tumores menores de 1,0 cm possuem apenas 10 a 20% de chance de acometimento linfonodal (Buitrago e cols., 2011).

1.3. Grau histológico

Para determinação do grau histológico, são consideradas características arquiteturais do tumor que têm influência no prognóstico: a formação de túbulos (como uma expressão da diferenciação glandular), a morfologia do núcleo e o número de mitoses. Cada um dos três itens recebe de um a três pontos e, após somadas, chega-se a um score final de graduação de I a III. De acordo com esta graduação, se a neoplasia exibir formação tubular em mais de 75% da área recebe 1 ponto, se houver formação tubular entre 10 a 75% terá 2 pontos, e se houver em menos de 10% recebe 3 pontos. No que diz respeito ao pleomorfismo nuclear, havendo núcleos pequenos em células regulares recebe 1 ponto, no caso de variabilidade moderada recebe 2 pontos, e se houver marcada irregularidade recebe 3 pontos. Por último, o número de mitoses é contado em dez campos de grande aumento: até quatro mitoses aufere 1 ponto, de cinco a nove recebe 2 pontos e acima de dez, 3 pontos. Feito isto, soma-se para chegar ao score final, classificando o carcinoma mamário em grau I (3-5 pontos: bem diferenciada), grau II (6-7 pontos: moderadamente diferenciada) e grau III (8-9 pontos: pouco diferenciada) (Elston e Ellis, 1991; WHO 2012).

Apesar de não ser considerada no estadiamento TNM da União Internacional Contra o Câncer (UICC), seu valor em termos de prognóstico já está bem estabelecido (Elston e Ellis, 1991; WHO, 2012).

1.4. Acometimento Axilar

O conhecimento do acometimento axilar constitui a mais importante das informações prognósticas, e inúmeros estudos demonstram que a sobrevida das pacientes está diretamente relacionada ao número de linfonodos axilares comprometidos e presença de invasão extracapsular (Carter e cols., 1989). Nas pacientes em que há envolvimento linfonodal, a taxa de recidiva é de 70%, caindo para 20% nas pacientes com linfonodo negativo (Vohra e cols., 2015; Reeder-Hayes e cols., 2011; Abreu e Koifman 2002).

1.5. A classificação molecular através de imunoistoquímica

A classificação morfológica elementar é insuficiente para descrever os tumores de mama. As pesquisas sobre as características moleculares dos carcinomas mamários têm disponibilizado muitas informações sobre o comportamento destes e, com isso, permitindo estabelecer estratégias de tratamento de maneira mais eficaz (Gralow e cols., 2008).

O *St. Gallen International Breast Cancer Conference Expert Panel* é um dos mais importantes eventos na área do câncer de mama. Nesta conferência, especialistas renomados apresentam e discutem grande parte dos estudos relevantes em câncer de mama e suas conclusões e/ou recomendações são seguidas por diversos países europeus e de outras partes do mundo (Goldhirsch,2011).

Durante o *12th St. Gallen International Breast Cancer Conference Expert Panel* em 2011, a classificação dos subtipos de câncer de mama realizada através de imunoistoquímica e de hibridização fluorescente “in situ" (FISH) foi eleita para as deliberações sobre estratégias terapêuticas. Ainda nesta conferência, foi sustentado o uso do receptor de estrógeno (RE), do receptor de progesterona (RP), do receptor do fator de crescimento epidérmico humano (HER-2) e do Ki-67 para a estratificação dos subtipos e foi debatido o ponto de corte desses marcadores a ser utilizado. O Ki-67 é um marcador nuclear de proliferação celular cuja expressão aumentada em cânceres de mama se correlaciona com uma pior sobrevida (Goldhirsch,2011).

Na conferência de St. Gallen de 2013 foi estabelecida a classificação molecular por imunoistoquímica com os pontos de corte que utilizamos atualmente, aperfeiçoando as ideias debatidas em 2011. O chamado Luminal A exibe positividade para os receptores de estrogênio e progesterona e índice proliferativo menor ou igual a 14%, já o subtipo Luminal B também apresenta positividade para os receptores hormonais, porém, índice proliferativo maior do que 14%. O subtipo HER-2 manifesta positividade para a proteína C-erbB-2 e negatividade para os receptores hormonais, porém o subtipo Luminal-HER-2 demonstra positividade tanto para a proteína C-erbB-2, quanto para os receptores de estrógeno e/ou progesterona. O subtipo triplo negativo, por sua vez, apresenta todos os marcadores negativos e ainda é dividido em triplo negativo basal, quando há expressão de citoqueratina 5/6 (CK), e triplo negativo não basal, quando CK 5/6 também é negativo (Perou e cols., 2000; Goldhirsch e cols., 2011; Harbeck, 2013; Marrazzo e cols., 2015).

1.6. Câncer de mama e a idade ao diagnóstico

A idade constitui fator de risco para o desenvolvimento da maioria das neoplasias malignas humanas, incluindo o câncer de mama. Estima-se que 80% dos carcinomas mamários ocorra acima dos 50 anos (Yau e cols., 2007).

Não há um consenso para definir a idade que caracteriza como adulto-jovem, nem como paciente idosa para o câncer de mama. A definição dos conceitos de juventude e senilidade tem sido alvo de inúmeras discussões sobre o tema, sendo que na literatura encontramos casos usando como ponto de corte idades de 30, 35 e 40 anos para pacientes jovens; e de 60, 65, 70 e até 75 anos de idade para pacientes idosas (Bultitude e Fentiman, 2002; Bun, 1999).

No presente estudo, adotou-se a definição de Bossemeyer, que se baseia no período reprodutivo e no perfil hormonal, considerando como jovens as mulheres de 35 anos ou menos, as quais estariam no auge da produção hormonal, e como idosas ou senescentes, as mulheres com mais de 65 anos, estimando que estas estariam há mais de uma década sem ação hormonal endógena. Esta definição parece ser a mais aceita na literatura atualmente (Bultitude e Fentiman, 2002; Hernandez e Magana, 2001; Diab e cols., 2000; Fernandes e cols., 1999).

Em relação as pacientes jovens, alguns aspectos merecem ser considerados. Nesta faixa etária, o diagnóstico precoce dos carcinomas mamários é, muitas vezes, dificultado pela maior densidade do parênquima mamário, baixa sensibilidade à mamografia e até pela interpretação equivocada dos achados como benignos (Foxcroft e cols., 2004).

É importante ainda ressaltar que o diagnóstico do câncer de mama em mulheres muito jovens requer uma abordagem muito delicada, uma vez que a conduta terapêutica deverá levar em consideração situações especiais, tais como, fertilidade, gravidez, contracepção, imagem corporal, sexualidade, questões familiares e também genéticas (Aebi, 2005).

.

1.7. Estudos que compararam a classificação molecular e os fatores prognósticos no câncer de mama nas pacientes jovens e idosas

Desde a conferência de *Saint Gallen* de 1998, por apresentarem comportamento clínico-biológico distinto, as mulheres com idade menor ou igual a 35 anos com diagnóstico de câncer de mama foram consideradas como um grupo de pior prognóstico. Por isto, a terapia sistêmica aplicada a elas tende a ser mais agressiva (Wahl e Kleinmann, 1998).

Conforme demonstrado por Walker e colaboradores em 1996 e corroborado por Yau e colaboradores em 2007, o risco de recidiva local e de morte também é maior nas jovens se comparadas as mulheres pós-menopausa. Os tumores nas pacientes jovens costumam apresentar comportamento biológico mais agressivo: maior tamanho, infiltrativos, com margens comprometidas, alto índice proliferativo, maior invasão vascular, maior comprometimento axilar e menor expressão de receptores hormonais.

No que diz respeito à classificação molecular, Rakha e colaboradores em 2007 demonstraram uma frequência maior de carcinomas mamários de tipo triplo negativo nas pacientes muito jovens se comparado com séries que avaliaram pacientes de todas as faixas etárias. Colleoni e cols.(2006) assim como Nixon *e cols.(1994)* e Walker e cols.(1996) encontraram uma frequência maior de receptores hormonais negativos nas pacientes mais jovens. Tal fato representa uma não responsividade à terapia hormonal, já consagrada, e com isto um prognóstico pior. Conforme descrito por Lialiaris e cols.*(2010)*, existe uma correlação direta entre a condição dos receptores hormonais negativos e uma alta taxa de proliferação celular, baixa diferenciação tumoral e uma sobrevida menor.

Crippa e colaboradores, em 2002, detectaram ainda um pior prognóstico e uma resposta terapêutica menos eficaz nas pacientes jovens, observando-se que após seguimento, apenas 57,5% das pacientes com câncer de mama estavam vivas e sem doença e 15% vivas e com doença em atividade. Já Kroman N *et al.*, não encontraram curvas de sobrevida global semelhantes nas diferentes faixas etárias pareadas por estádios.

Com relação a história familiar, Jmor e cols. (2002) encontraram uma maior frequência de carcinomas mamários em parentes de primeiro grau nas pacientes jovens. Loman e cols.*(2001*) tentam explicar este maior valor pela maior frequência de mutações nos genes BRCA-1 e BRCA-2 em até 12,8% quando comparada a frequência de até 5,2% nas idosas.

Contudo, a literatura ainda permanece controversa no que se refere a idade como fator independente para recorrência locorregional e sistêmica. Voogh e cols., em 2001, encontraram uma taxa de recorrência até cinco vezes maior de recorrência nas pacientes jovens quando comparada a das pacientes idosas na ocasião do diagnóstico. Porém, em algumas séries como a de Arriagada e cols. (2002), somente nas pacientes jovens submetidas a tratamento conservador a frequência de recorrência, tanto local, quanto sistêmica, se mostrou mais elevada; quando submetidas a cirurgia radical não foi encontrada diferença estatística.

O grau de acometimento axilar, sabidamente um indicador de pior prognóstico, também é um dado ainda controverso quando se comparam diferentes grupos etários. Jmor e cols.(2002) encontraram um grau de acometimento axilar maior nas pacientes jovens, porém, Sidoni e cols. (2003) não encontraram diferenças estatísticas entre o grupo das pacientes idosas e das pacientes jovens.

Por fim, alguns autores como Aebi e cols.(2006), revisando o tema, concluem que com os fatores prognósticos convencionais, ainda não se faz possível uma correta diferenciação entre os diferentes grupos etários. Eles avaliam que os avanços nas ferramentas de descrição do perfil de expressão gênica possam melhor predizer o prognóstico destes casos especiais, uma vez que as pacientes jovens concentram a maior proporção dos casos com assinatura gênica de mau prognóstico.

Mais séries de estudos comparando estes dois grupos etários se fazem necessários para melhor estratificação de suas características. Com este intento, pretende-se, no presente trabalho, descrever as características do carcinoma primário da mama nas pacientes jovens e idosas diagnosticadas no Laboratório de Patologia do Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre no período de 1º de Março de 2013 a 1º de Março de 2016. A partir de então estabelecer correlações entre os dois grupos.

1.8. Referências bibliográficas

Aebi S. Special issues related to the adjuvante therapy in very young women. The Breast 2005; 14:594-9.

Aebi S, Castiglione M. The enigma of young age. Ann Oncol. 2006; 17(10):1475-7.

Abreu E, Koifman S. Fatores prognósticos no câncer da mama feminina. Revista Brasileira de Cancerologia 2002; 48(1):113-31.

Alvarenga M. Tumores da Mama. In: Billis AV. Patologia diagnóstica de tumores. Campinas: Digital do Brasil Gráfica e Editora; 2014. p.205-298.

Arriagada R, Lê MG, Contesso G, Guinebretière JM, Rochard F, Spielmann M. Predictive factors for local recurrence in 2006 patients with surgically resected small breast cancer. Ann Oncol. 2002;13(9):1404-13.

Barros ACSD, Leite KRM. Classificação molecular dos carcinomas de mama: uma visão contemporânea/Molecular classification of breast cancer: a contemporary view. Rev. Bras. Mastologia 2015 out.-dez.; 25(4):146-55.

Bossemeyer R. Aspectos gerais do climatério. In: Fernandes CE, Melo NR, Wehba S, editores. Climatério Feminino: fisiopatologia, diagnóstico e tratamento. São Paulo: Lemos Editorial; 1999. Cap.1, p. 17-33.

Buitrago F, Uemura G, Sena MCF. Fatores prognósticos em câncer de mama. Com. Ciências Saúde 2011; 22(Sup 1):S69-82.

Bultitude M, Fentiman I. Breast Cancer in older women. IJCP 2002; 56(8):588-90.

Bun M. El cáncer de mama en la mujer anosa. In: Basegio DL editor, Câncer de Mama: Abordagem Multidisciplinar.: Rio de Janeiro: Revinter Ltda; 1999. p.287-306.

Clagman SW *et al.* Idade como fator independente de prognóstico no câncer de mama. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, 2008 30 (2): 67-74.

Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24740 breast cancer cases. Cancer 1989; 63:181-7.

Clark G. Fatores prognósticos e preditivos. In: Harris J.(Ed.). Doenças da Mama. 2ª. ed. San Francisco: Lippincott; 2002. p.587-620.

Colleoni M, Rotmensz N, Peruzzotti G, Maisonneuve P, Orlando L, Ghisini R, et al. Role of endocrine responsiveness and adjuvant therapy in very young women (below 35 years) with operable breast cancer and node negative disease. Ann Oncol. 2006; 17(10):1497-503.

Crippa CG, Hallal ALC, Dellagiustina AR, Traebert EE, Gondin G, Pereira C. Perfil clínico e epidemiológico do câncer de mama em mulheres jovens. ACM. Arq Catarin Med. 2003;32(3):50-8.

Diab SG, Elledge RM, Clark GM. Tumor characteristics and clinical outcome of elderly women with breast cancer. J Natl Cancer Inst. 2000; 92(7):550-6.

Eisenberg A, Koifmann S. Fatores prognósticos no câncer de mama. Rev Bras Mastol. 2000; 10(2):75-87.

Elmore JG, Armstrong K, Lehman CD, Fletcher SW, Screening for breast cancer. Jama 2005; 293(10):1245-56.

Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. 19. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. Histopathology, 1991; 19(5):403-10.

Fischer B, Slack NH, Bross IDJ. Cancer of the breast: size of neoplasm and prognosis. Cancer 1969; 24:1071-80.

Foxcroft LM, Evans EB, Porter AJ. The diagnosis on breast cancer in women younger than 40. The Breast 2004 aug; 13(4):297-306.

Garicochea B, Morelle A, Andrighetti AE, Cancella A, Bós A, Werutsky G. Idade como fator prognóstico no câncer de mama em estádio inicial. Rev Saúde Pública 2009; 43(2):311-7.

Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ, Strategies for subtypes- dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. Annals of Oncology 2011; 22:1736-47.

Gralow J, Ozols RF, Bajorin DF, Cheson BD, Sandler HM, Winer EP, *et al.*, Clinical cancer advances 2007: major research advances in cancer treatment, prevention, and screening. A report from The American Society of Clinical Oncology. J Clin Oncol. 2008; 26(2):313-25.

Han W, Kim SW, Park IA, Kang D, Kim SW, Youn YK, *et al.* Young age: an independent risk factor for disease-free survival in women with operable breast cancer. BMC Cancer 2004; 4:82.

Harbeck N. Thomssen C, Gnant M, St Gallen 2013: Brief Preliminary Summary of the Consensus Discussion. Breast Care 2013; 8:102-9.

Hernandez HM, Magana NOR. Cáncer de la mama en la senectude. Rev Med Hosp Gen Mex. 2001; 64(1):21-6.

Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2016. Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2016.

Jmor S, Al-Sayer H, Heys SD, Payne S, Miller I, Ah-See A, *et al.* Breast cancer in women aged 35 and under: prognosis and survival. J R Coll Surg Edinb. 2002;47(5):693-9.

Keegan THM, DeRouen MC, Press DJ, Kurian AW, Clarke CA. Occurrence of breast cancer subtypes in adolescent and young adult women. Breast Cancer Res. 2012; 14(2):R55.

Kroman N, Holtveg H, Wohlfahrt J, Jensen MB, Mouridsen HT, Blichert-Toft M, et al. Effect of breast-conserving therapy versus radical mastectomy on prognosis for young women with breast carcinoma. Cancer. 2004;100(4):688-93.

Lialiaris TS, Georgiou G, Sivridis E, Kareli D, Tripsiannis G, Papageorgiou A, *et al.* Prognostic and predictive factors of invasive ductal breast carcinomas. J Buon. 2010; 15(11):79-88.

Loman N, Johannsson O, Kristoffersson U, Olsson H, Borg A. Family history of breast and ovarian cancers and BRCA1 and BRCA2 mutations in a population-based series of early-onset breast cancer. J Natl Cancer Inst. 2001;93(16):1215-23.

Marrazzo A, Boscaino G, Marrazzo E, Taormina P, Toesca A. Breast cancer subtypes can be determinant in the decision making process to avoid surgical axillary staging: A retrospective cohort study. Int J Surg. 2015, (S15):1743-91.

Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF, Gelman R, Connolly JL, Schnitt S, et al. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. J Clin Oncol. 1994; 12(5):888-94.

Palmer MK, Lythgoe JP, Smith A. Prognostic factors in breast cancer. BR J Surg. 1982; 69:697-8.

Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nature 2000 Aug 17; 406(6797):747-52. PubMed PMID: 10963602.

Pollán M. Epidemiology of breast cancer in young women. Breast Cancer Res Treat, Epub 2010 aug 14; 123(Suppl 1):3-6.
Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Impact of basal-like breast carcinoma determination for a more specific therapy. Pathobiology. 2008;75(2):95-103.

Reeder-Hayes KE, Bainbridge J, Meyer AM, Amos KD, Weiner BJ, Godley PA, *et al.* Race and age disparities in receipt of sentinel lymph node biopsy for early-stage breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2011; 128(3):863-71.

Sidoni A, Cavaliere A, Bellezza G, Scheibel M, Bucciarelli E. Breast cancer in young women: clinicopathological features and biological specificity. Breast. 2003;12(4):247-50.

Sinn HP, Kreipe H. A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors. 4th ed. Breast Care 2013; 8(2):149-54.

Voguel VG. Epidemiology, genetics and risk evaluation of posmenopausal women at risk of breast cancer. Menopause: The Journal of The North American Menopause Society 2008; 15(4):782-9.

Vohra LM, Gulzar R, Saleem O. Intra operative frozen examination of sentinel lymph node in breast cancer. J Ayub Med Coll Abbottabad 2015 jan-mar; 27(1):40-4.

Voogd AC, Nielsen M, Peterse JL, Blichert-Toft M, Bartelink H, Overgaard M, et al. Differences in risk factors for local and distant recurrence after breast-conserving therapy or mastectomy for stage I and II breast cancer: pooled results of two large European randomized trials. J Clin Oncol. 2001;19(6):1688-97.

Yau C, Fedele V, Roydasgupta R, Fridlyand J, Hubbard A, Gray JW *et al.* Aging impacts transcriptomes but not genomes of hormone-dependent breast cancers. Breast Cancer Res. 2007; 9(5).

Wahl LM, Kleinmann HK. Tumor-Associated Macrophages as Targets for Cancer. Journal of the National Cancer Institute 1998 nov 4; 90(21)

Walker RA, Lees E, Webb MB, Dearing SJ. Breast carcinomas 3. occurring in young women (<35 years) are different. Br J Cancer. 1996;74(11):1796-800.

World Health Organization - WHO. Classification of Tumours of the Breast. 4th ed. Lyon: IARCs; 2012.

2. Objetivos:

2.1. Gerais:

- Estratificação dos casos de carcinoma primário de mama em pacientes femininas jovens (18-35 anos) e idosas (≥65 anos).
- Classificação molecular de todos os casos selecionados.
- Registro das variáveis: tamanho do tumor, tipo e grau histológico, e status do comprometimento axilar.

2.2. Específicos:

- Buscar correlações estatísticas entre as variáveis qualitativas (grau histológico, tipo histológico, tamanho do tumor e comprometimento axilar) entre si e entre os grupos de pacientes femininas jovens e idosas.
- Analisar a epidemiologia dos perfis moleculares e características histológicas mais ou menos agressivas de acordo com as faixas etárias determinadas.

3. Artigo científico redigido em inglês

Molecular Classification by Immunohistochemistry and Comparison of Prognostic Factors in Breast Cancer on Young and Elderly Patients from a Pathology Service in the South of Brazil.

Keywords: Breast cancer, Prognostic factors, Age groups, Young patients.

Abstract:

Breast Cancer is increasingly understood as a heterogeneous disease. neoplasms of similar morphology may have different molecular profiles, not detectable by conventional histopathology. Despite only having 7% of all cases of breast cancer, young patients have distinct characteristics and prognosis than patients in the postmenopausal. The objective of this work was to compare the characteristics of primary breast carcinomas in young and elderly patients diagnosed in the Laboratory of Pathology and Cytology from Santa Casa de Misericordia de Porto Alegre Hospital Complex during the period from March 1st 2013 until March 1st 2016, establishing correlations between the different age groups. The molecular classification and the prognostic factors of tumor size, histological type, histological degree and state of axillary involvement were analyzed on those groups of patients. Statistically significant differences were found in molecular classification and histological degree of both groups, results showing that breast carcinomas in very young people had worse histological and immunophenotypic characteristics than in postmenopausal patients, corroborating data from other published studies.

Introduction:

Despite progress in researches, breast cancer still is the malignant neoplasm affecting more women in the whole world, except non-melanoma skin cancer [1]. Breast cancer is increasingly understood as an heterogeneous disease. Neoplasms of similar morphology may have different molecular profiles, not detectable by the conventional histopathology [2-3]. Despite responding by only 7% of all cases of breast carcinoma, young patients have distinct characteristics and prognosis than postmenopausal patients [4-5].

The objective of this work was to compare the characteristics of the primary breast carcinoma in young and elderly patients diagnosed in the Laboratory of Pathology and Cytology from Hospital Complex Santa Casa de Misericórdia in Porto Alegre during the period from March 1st 2013 until March 1st 2016, establishing correlations between the different age groups.

Methods:

This is a retrospective study in which all pathological reports about primary breast carcinoma diagnosed by the Laboratory of Pathology and Cytology from Santa Casa de Misericordia de Porto Alegre Hospital Complex where examined, with their respective immunohistochemical tests during the period from March 1st, 2013 until March 1st, 2016. The molecular classification and the prognostic factors of tumor size, histological type, histological grade and state of axillary involvement were analyzed and compared between the group of young patients (≤35 years) and the group of elderly patients (≥65 years). Chi-squared or Fisher’s exact tests were used for comparing both groups. Odds ratio was used to indicate the magnitude of the existing differences. For numeric variables, with non-normal distribution, Mann-Whitney's U test was used for comparing the group of young and the group of elderly patients. As the threshold for statistical significance, the value of 5% ($p < 0.05$) was adopted. All analyzes were carried out using the SPSS 18.0 version for Windows. The Committee of Research Ethics from "*Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre*" approved the work according to resolution 466/2012 from the CNS/MS.

Histological types considered were non-special ductal and classic lobular and the histological grade was determined by Nottingham's score. Axillary involvement was considered as positive when in presence of metastasis and negative in the absence of metastasis [6,23].

Molecular classification was determined according to *St. Gallen's Conference* in 2011, where neoplasms were stratified into five categories: Luminal A (positive hormonal receptors, negative HER-2, Ki-67 lower than 14%), Luminal B (positive hormonal receptors, negative HER-2, Ki-67 greater than 14%), Luminal-HER2 (positives hormonal receptors and HER2), triple negative basal (negatives hormonal receptors and HER2 and positive CK5/6) and triple negative non-basal (negatives hormonal receptors, HER2 and CK5/6) [7-8].

Results:

A total of 286 patients were selected, 61 of them of ages ≤ 35 years and 225 of ages ≥ 65. Regarding molecular classification, it was observed that 51.6% of elderly patients are part of group Luminal A, the one with the better prognosis. On the other hand, only 24.6% of young patients were part of this group, thus making possible to reach the conclusion that youngsters have 2.21 more chances of having breast carcinoma type Luminal B than elderly, having category Luminal A as reference. The group of young patients has 13 cases with Basal phenotype (21.3%) against 18 on the group of elderly, corresponding to just 8.0% of the sample. Thus, it is possible to say that the group of young patients has 5.58 times more chances of having a tumor with Basal phenotype than the group of elderly. Table 1.

Still according to the molecular classification, five patients were found in group HER-2, both in the group of young patients (8.2%) as well as in the group of elderly ones (2.2%). From those data, it is possible to reach the conclusion that the probability of young patients being in category HER-2 is 7.73 times greater than the one of elderly ($p<0.006$). Finally, 11.5% of young patients were part of group Luminal-HER-2, against 3.6% of the elderly, youngsters having a chance 6.76 times greater of being part of group Luminal-HER-2 than the elderly.Table 1.

Table 1

Comparison of Molecular Classification of very young and postmenopausal patients

Molecular Classification	Youngsters		Elderly		P Value	OR	(IC)
	N	%	N	%			
Luminal A	15	24.6%	116	51.6%		1	
Basal	13	21.3%	18	8.0%	<0.001	5.58	(2.28 - 13.64)
HER-2	5	8.2%	5	2.2%	0.006	7.73	(2.00 - 29.86)
Luminal B	20	32.8%	70	31.1%	0.039	2.21	(1.06 - 4.59)
Luminal HER-2	7	11.5%	8	3.6%	0.002	6.76	(2.14 - 21.33)
Triple negative non-basa	1	1.6%	8	3.6%	1.00	0.967	(0.11 - 8.27)

OR = Odds Ratio

Regarding axillary involvement, in the group on young patients, 20 had lymphnode metastasis (32.8%); in the group of elderly this number was 57 (25.3%). Despite determining that youngsters have a probability 43% greater of having lymph node metastasis than the elderly, this difference was not statistically significant (p=0.257).

Regarding histological type, even if it was observed that youngsters have a chance 3.36% greater of having breast cancer of ductal type than the elderly, this difference was not statistically significant (p=0,123) as demonstrated in Table 2.

Regarding histological grade, young patients have a chance 7.81 times greater of having carcinoma of histological grade 3 than elderly, this datum being statistically significant (p<0.028). When histological grades 1 and 2 are compared, despite verifying that youngsters have a 3.8 times greater chance of having histological grade 2 breast cancer than the elderly, this difference was not statistically significant (p=0,309) as may be verified in Table 2.

Finally, the average size of tumors in the group of young patients was 2.10cm, while in the group of elderly patients it was 1.90 cm, however this difference did not have statistical significance (p=0.692).

Table 2

Comparison of axillary involvement, histological type, histological grade and tumor size of young and elderly patients

	Youngsters		Elderly		P Value	OR	(IC)
	N	%	N	%			
Positive axillary involvement	20	32.8%	57	25.3%	0.257	1.43	(0.78 - 2.65)
Histological type							
Lobular	2	3.3%	23	10.2%		1	
Ductal	59	96.7%	202	89.8%	0.123	3.36	(0.769 - 14.66)
Histological grade							
1	1	1.6%	20	8.9%		1	
2	19	31.1%	100	44.4%	0.309	3.80	(0.48 - 30.04)
3	41	67.2%	105	46.7%	0.028	7.81	(1.02 - 60.10)
Size (cm)*	2.10	(1.2 and 3.35)	1.90	(1.2 and 3.0)	0.692		

*median (quartile 25 and 75)
OR = Odds Ratio

Discussion:

The incidence of breast carcinomas is nine times smaller in very young patients than in postmenopausal patients [9]. Only 2 to 7% affected women are of ages ≤35 years [10-11].

Since Saint Gallen’s conference of 1998, women of ages ≤ 35 years with diagnosis of breast cancer were considered as a group of worse diagnosis, because they have a distinct clinical and biological behavior. That is why the systemic therapy applied to them tends to be more aggressive [12]. This study evidenced factors of worse diagnosis associated to breast carcinomas in young patients, corroborating the findings of other authors [9,13,14,15-16].

Regarding molecular classification, a greater frequency of negative hormone receptors and high positivity for protein HER-2 were found in the group of young patients. A frequency 5.58 times greater of basal phenotype was observed in young patients as well as one 7.73 times greater of HER-2 phenotype also in young patients, compared with the group of elderly patients. This fact represents a failure in the response to hormonal therapy, already consecrated, and with that a worse diagnosis. This finding was already described before and evidences a significant inverse relationship between negativity for hormonal markers and positivity to HER-2 protein [17,18-19].

A frequency 2.21 times greater was also identified on group Luminal B in young patients when compared with Luminal A, which has lower proliferative index and, with that, also a better prognosis.

Regarding histological type, several studies demonstrate that infiltrative ductal carcinoma is the most prevalent one, both in young as well as in elderly patients. It is estimated that it accounts for 50 to 75% of cases. Studies are also demonstrating that infiltrative ductal carcinoma has worse prognosis regarding the lobular one [20].

Regarding histological grade, from the observed differences, Sundquist *et al.*, e Fernandopulle et al., mention greater histological grade between younger patients, this being a characteristic associated with the higher mortality from the disease [21-22]. In this study, an incidence 7.81 times greater of carcinomas with histological degree III was observed in patients of ages ≤35 years if compared with postmenopausal patients. Despite not being considered in the TNM classification from the International Union Against Cancer (UICC), its value for prognosis is already well established [6-23].

The degree of axillary involvement, known as an indicator of worse prognosis, is also a still controversial datum when different age groups are compared. Jmor *et al.(2003)* found a greater degree of axillary involvement in young patients, however Sidoni *et al.* (2003) did not found statistical differences in those two groups [24-25].

Our results, generally, confirm data from works described in literature showing that breast carcinomas in very young women have worse histological and immunophenotypic characteristics than postmenopausal patients. Despite not having found values with statistical significance in all of the analyzed variables, it is possible conjecturing that this is due to the size of the sample. Thus, the amplification of this work during a larger time period, in order to increase the sample, can be relevant.

Finally, some authors such as Aebi *et al*.(2005) revising the theme, suggest that it is not still possible to establish a correct differentiation between the different age groups with conventional prognostic factors. They evaluate that the advancements in tools for describing the gene expression profile may better predict the prognosis of those special cases, since young patients concentrate the large proportion of cases with gene signature of poor prognosis [26-31].

References:

[1] Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), Estimativa 2016, Incidência de Câncer no Brasil, INCA, Rio de Janeiro, 2016.

[2] C.M. Perou, T. Sorlie, M.B. Eisen, M. van de Rijn, S.S. Jeffrey, C.A. Rees, J.R. Pollack, D.T. Ross, H. Johnsen, L.A. Akslen, O. Fluge, A. Pergamenschikov, C. Williams, S.X. Zhu, P.E. Lonning, A. Borrensen-Dale, P.O. Brown, D. Botstein, Molecular portraits of human breast tumours, Nature 17 (2010) 747-752. PubMed PMID:10963602.

[3] A.C.S.D. Barros, K.R. Leite, Classificação molecular dos carcinomas de mama: uma visão contemporânea/Molecular classification of breast cancer: a contemporary view, Rev. Bras. Mastologia 25 (4) (2015) 146-155.

[4] M. Alvarenga, Tumores da Mama, in: A.V.J. Billis (Ed.), Patologia diagnóstica de tumores, Digital do Brasil Gráfica e Editora, Campinas, 2014, pp. 205-298.

[5] S.W. Clagman, J.M. Andrade, H.H.A. Carrara, D.G. Tiezzi, F.J.C. Reis, H.R.C. Marana, R.A. Abrão, Idade como fator independente de prognóstico no câncer de mama, Rev. Bras. Ginecologia e Obstetrícia 30 (2) (2008) 67-74.

[6] C.W. Elston, I.O. Ellis, Pathological prognostic factors in breast cancer, The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up, Histopathology 19(5) (1991) 403-410.

[7] World Health Organization, WHO Classification of Tumours of the Breast, 4th. ed., IARC Press, Lyon, 2012.

[8] A. Goldhirsch, W. C. Wood, A. S. Coates, R. D. Gelber, B. Thürlimann, H.-J. Senn, Strategies for subtypes- dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011, Annals of Oncology 22 (2011) 1736 - 1747.

[9] N. Harbeck, C. Thomssen, M. Gnant, St Gallen 2013: Brief Preliminary Summary of the Consensus Discussion, Breast Care 8 (2013) 102-109.

[10] E.A. Rakha, J.S. Reis-Filho, I.O. Ellis, Impact of basal-like breast, carcinoma determination for a more specific therapy, Pathobiology. 75 (2) (2008) 95-103.

[11] E.A. Rakha, M.E. El-Sayed, A.R. Green, A.H. Lee, J.F. Robertson, I.O. Ellis, Prognostic markers in triple-negative breast cancer, Cancer 109 (1) (2007) 25-32.

[12] B. Garicochea, A. Morelle, A.E. Andrighetti, A. Cancella, A. Bós, G. Werutsky, Idade como fator prognóstico no câncer de mama em estádio inicial, Rev Saúde Pública 43(2) (2009) 311-317.

[13] T.H.M. Keegan, M.C. DeRouen, D.J. Press, A.W. Kurian, C.A. Clarke, Occurrence of breast cancer subtypes in adolescent and young adult women, Breast cancer Res 14(2) (2012) R55.

[14] M. Pollán, Epidemiology of breast cancer in young women, Breast Cancer Res Treat, Epub 123 Suppl 1 (2010 aug 14) 3-6.

[15] W . Han, S.W. Kim, I.A. Park, D. Kang, S.W. Kim, Y.K. Youn *et al.,* Young age: an independent risk factor for disease-free survival in women with operable breast cancer, BMC Cancer 4 (2004) 82.

[16] M. Colleoni, N. Rotmensz, G. Peruzzotti, P. Maisonneuve, L. Orlando,R. Ghisini *et al.,* Role of endocrine responsiveness and adjuvant therapy in very young women (below 35 years) with operable breast cancer and node negative disease, Ann Oncol. 17(10) (2006) 1497-1503.

[17] A.M. Gonzalez-Angulo, K. Broglio, S.W. Kau, Y. Eralp, J. Erlichman, V. Valero *et al.,* Women age ≤35 years with primary breast carcinoma: disease features at presentation, Cancer 103(12) (2005) 2466-72.

[18] B.C. Yankaskas, Epidemiology of breast cancer in young women, Breast Dis. 23 (2005-2006) 3-8.

[19] C.K. Anders, D.S. Hsu, G. Broadwater, C.R. Acharya, J.A. Foekens,Y. Zhang *et al.,* Young age at diagnosis correlates with worse prognosis and defines a subset of breast cancers with shared patterns of gene expression, J Clin Oncol. 26 (20) (2008) 3324-3330.

[20] T.S. Lialiaris, G. Georgiou, E. Sivridis, D. Kareli, G. Tripsiannis, A. Papageorgiou *et al.,* Prognostic and predictive factors of invasive ductal breast carcinomas, J Buon. 15 (11) (2010) 79-88.

[21] M. Sundquist, S. Thorstenson, L. Brudin, S. Wingren, B. Nordenskjöld, Incidence and prognosis in early onset breast cancer, J Breast 11 (1) 2002 30-35.

[22] S.M. Fernandopulle, P. Cher-Siangang, P.H. Tan, Breast carcinoma in women 35 years and younger: a pathological study, Pathology. 38 (3) (2006) 219-222.

[23] S. Jmor, H. Al-Sayer, S.D. Heys, S. Payne, I. Miller, A. Ah-See *et al.,* Breast cancer in women aged 35 and under: prognosis and survival, J R Coll Surg Edinb. 47 (5) (2002) 693-699.

[24] A. Sidoni, A. Cavaliere, G. Bellezza, M. Scheibel, E. Bucciarelli, Breast cancer in young women: clinicopathological features and biological specificity, Breast 12 (4) (2003) 247-250.

[25] S. Aebi, M. Castiglione, The enigma of young age, Ann Oncol. 17 (10) (2006) 1475-1477.

[26] A.J. Nixon, D. Neuberg, D.F. Hayes, R. Gelman, J.L. Connolly, S. Schnitt *et al.,* Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer, J Clin Oncol. 12 (5) (1994) 888-894.

[27] R.A.Walker, E. Lees, M.B. Webb, S.J. Dearing, Breast carcinomas 3. occurring in young women (<35 years) are different, Br J Cancer 74 (11) (1996) 1796-1800.

[28] V. Bonadona, O. M. Sinilnikova, S. Chopin, A.C. Antoniou, H. Mignotte, P. Mathevet *et al.,* Contribution of BRCA1 and BRCA2 germline mutations to the incidence of breast cancer in young women: results from a prospective population-based study in France, Genes Chromosomes Cancer 43 (4) (2005) 404-413.

[29] C.S. Foo, D. Su, C.K.Chong, H.C. Chng, K.H. Tay, S.C. Low *et al.,* Breast cancer in young Asian women: study on survival, ANZ J Surg. 75 (7) (2005) 566-572.

[30] N.S. El Saghir, M. Seoud, M.K. Khalil, M. Charafeddine, Z.K. Salem, B.F. Geara *et al.,* Effects of young age at presentation on survival in breast cancer, BMC Cancer 6 (2006)194.

4. Considerações finais

O Laboratório de Patologia e Citologia do Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, representa uma referência no diagnóstico das patologias oncológicas no estado do Rio Grande do Sul. Dados levantados pela entidade estimam em, cerca de, 7000 casos envolvendo mama são analisadas por ano dentre biópsias, setorectomias, mastectomias, mamoplastias reparadoras, análises do perfil imunoistoquímico e hibridização "in situ". Desta forma, podemos inferir que nossa amostra é representativa da população do Sul do Brasil.

As limitações do nosso estudo incluem o caráter retrospectivo e o tamanho da amostra de acordo com os critérios de inclusão adotados. Contudo, nossos achados reforçam o que já havia sido demonstrado em outras séries. Dessa forma, é importante que novos estudos com uma amostra maior sejam feitos a fim de que se possam estabelecer correlações ainda mais precisas entre as características do câncer de mama nas pacientes jovens e idodas.

5. Anexos

5.1. Pathology, Research and Practice: Guide for Authors

Introduction

Pathology, Research and Practice covers the entire field of pathology: Reviews focus on recent progress in pathology, while Comments look at interesting current problems and at hypotheses for future developments in pathology. Original Papers present novel findings on all aspects of general, anatomic and molecular pathology. Rapid Communications inform readers on preliminary findings that may be relevant for further studies and need to be communicated quickly. Teaching Cases look at new aspects or special diagnostic problems of diseases and at case reports relevant for the pathologist's practice.

Declaration of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. More information.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' section of our ethics policy for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop.

Informed consent and patient details

Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent, which should be documented in the paper. Appropriate consents, permissions and releases must be obtained where an author wishes to include case details or other personal information or images of patients and any other individuals in an Elsevier publication. Written consents must be retained by the author and copies of the consents or evidence that such consents have been obtained must be provided to Elsevier on request. For more information, please review the Elsevier Policy on the Use of Images or Personal Information of Patients or other Individuals. Unless you have written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details of any patient included in any part of the article and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via http://ees.elsevier.com/prp.

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our Support site. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

Peer Review: Single blinded

Preparation

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - unnumbered sections

Divide your article into clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be used as much as possible when cross-referencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply 'the text'.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

• **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

• **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

• **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

• **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site.

Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements: Illustration Service.

Highlights

Highlights are a short collection of bullet points that convey the core findings of the article. Highlights are optional and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view example Highlights on our information site.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Image manipulation

Whilst it is accepted that authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, this journal is applying the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

Electronic artwork

General points

• Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.

• Embed the used fonts if the application provides that option.

• Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.

• Number the illustrations according to their sequence in the text.

• Use a logical naming convention for your artwork files.

• Provide captions to illustrations separately.

• Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.

• Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

• Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;

• Supply files that are too low in resolution;
• Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article**. Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Illustration services

Elsevier's WebShop offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

A DOI can be used to cite and link to electronic articles where an article is in-press and full citation details are not yet known, but the article is available online. A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. Journal of Geophysical Research, http://dx.doi.org/10.1029/2001JB000884i. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

http://open.mendeley.com/use-citation-style/pathology-research-and-practice

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: '... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result ...'

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples*:*

Reference to a journal publication:

[1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, J. Sci. Commun. 163 (2010) 51–59.

Reference to a book:

[2] W. Strunk Jr., E.B. White, The Elements of Style, fourth ed., Longman, New York, 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), Introduction to the Electronic Age, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304.

Reference to a website:

[4] Cancer Research UK, Cancer statistics reports for the UK. http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/, 2003 (accessed 13.03.03).

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

• E-mail address

• Full postal address

All necessary files have been uploaded, and contain:

• Keywords

• All figure captions

• All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

• Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'

• References are in the correct format for this journal

• All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa

• Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)

Printed version of figures (if applicable) in color or black-and-white

• Indicate clearly whether or not color or black-and-white in print is required. For any further information please visit our Support Center.

5.2. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCMPA)

IRMANDADE DA SANTA CASA DE MISERICORDIA DE PORTO ALEGRE - ISCMPA

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Classificação molecular e comparação de fatores prognósticos no câncer de mama em pacientes jovens e idosos de um serviço de patologia do Sul do Brasil

Pesquisador: Deise Louise Bohn Rhoden

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 25389713.0.0000.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre – ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 579.314

Data da Relatoria: 18/02/2014

Apresentação do Projeto:

O presente trabalho pretende descrever as características do carcinoma primário da mama nas pacientes adulto-jovens e idosas diagnosticadas no Laboratório de Patologia do Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre no período de Março de 2009 a Março de 2016 e estabelecer correlações entre estes diferentes grupos etários, bem como traçar o perfil da doença nestes grupos.

Tamanho da amostra:200

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Estratificação dos casos de carcinoma primário de mama em pacientes femininas jovens (18-35 anos) e idosas (maior ou igual a 65 anos);
- Classificação molecular de todos os casos selecionados;
- Registro das variáveis: maior eixo, tipo e grau histológico.

Objetivo Secundário:

- Buscar correlações estatísticas entre as variáveis qualitativas (grau histológico, tipo histológico e maior eixo tumoral) entre si e entre os grupos de pacientes femininas adulto-jovens e idosas;
- Analisar a epidemiologia dos perfis moleculares e características histológicas mais ou menos agressivas de acordo com as faixas etárias determinadas

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Como será realizado um trabalho de revisão e estabelecimento de correlações, não há riscos envolvidos para os pacientes, nem para a instituição e pesquisadores envolvidos.

Benefícios: Estabelecimento de características destes diferentes grupos etários em um Laboratório de Patologia, com grande volume de casos, no Sul do Brasil, assim podendo trazer informações epidemiológicas e prognósticas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O presente não ocasionará modificações na conduta terapêutica das pacientes envolvidas, nem acarretará modificações em seus prognósticos.

Como trata-se de um trabalho de Revisão de Laudos Anatomopatológicos para estabelecer correlações entre grupos etários, o termo de consentimento não se mostra necessário.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos obrigatórios foram apresentados com a retificação no termo de declaração de uso e publicação de dados.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após reanálise do projeto acima descrito, recomenda-se aprovar.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Após reavaliação do protocolo acima descrito, o presente comitê não encontrou óbices quanto ao desenvolvimento do estudo em nossa Instituição e poderá ser iniciado a partir da data deste parecer.

Obs.:

1 - O pesquisador responsável deve encaminhar à este CEP, Relatórios de Andamento dos Projetos desenvolvidos na ISCMPA. Relatórios Parciais (pesquisas com duração superior a 6 meses), Relatórios Finais (ao término da pesquisa) e os Resultados Obtidos (cópia da publicação).

2 - Para o início do projeto de pesquisa, o investigador deverá apresentar à chefia do serviço (onde será realizada a pesquisa), o Parecer Consubstanciado de aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética.

PORTO ALEGRE, 03 de Abril de 2014

Assinador por:

Claudio Teloken

(Coordenador)