



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

BIANCA ELEN DE SOUZA ALVES

**IMUNOEXPRESSÃO DA PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASE DO TIPO
RECEPTOR N2 NO CURSO CLÍNICO DO CARCINOMA INFLAMATÓRIO DA
MAMA: ASSOCIAÇÃO COM MACRÓFAGOS E CÉLULAS ENDOTELIAIS**

FORTALEZA-CE

2025

BIANCA ELEN DE SOUZA ALVES

IMUNOEXPRESSÃO DA PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASE DO TIPO
RECEPTOR N2 NO CURSO CLÍNICO DO CARCINOMA INFLAMATÓRIO DA
MAMA: ASSOCIAÇÃO COM MACRÓFAGOS E CÉLULAS ENDOTELIAIS

Dissertação submetida à Coordenação do
Programa de Pós-Graduação em
Farmacologia da Universidade Federal do
Ceará, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em
Farmacologia. Área de concentração:
Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Deysi Viviana
Tenazoa Wong

FORTALEZA-CE

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A477i Alves, Bianca Elen de Souza.
Imunoexpressão da Proteína Tirosina Fosfatase do tipo Receptor N2 no curso clínico do Carcinoma
Inflamatório da Mama: associação com macrófagos e células endoteliais / Bianca Elen de Souza Alves. – 2025.
148 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2025.

Orientação: Profa. Dra. Deysi Viviana Tenazoa Wong.

1. PTPRN2. 2. Câncer. 3. Microambiente tumoral. 4. Biomarcadores moleculares. I. Título.

CDD 615.1

BIANCA ELEN DE SOUZA ALVES

IMUNOEXPRESSÃO DA PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASE DO TIPO
RECEPTOR N2 NO CURSO CLÍNICO DO CARCINOMA INFLAMATÓRIO DA
MAMA: ASSOCIAÇÃO COM MACRÓFAGOS E CÉLULAS ENDOTELIAIS

Dissertação submetida à Coordenação do
Programa de Pós-Graduação em
Farmacologia da Universidade Federal do
Ceará, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestra em
Farmacologia. Área de concentração:
Farmacologia.

Aprovada em: 19/08/2025

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Deysi Viviana Tenazoa Wong

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Silvia Regina Rogatto

Universidade Estadual Paulista (UNIFESP-Botucatu)

Prof. Dr. Carlos Heli Bezerra Leite

Instituto do Câncer do Ceará (ICC/HHJ)

A Deus.

À minha avó, Miriam de Souza Alves.

Aos meus sobrinhos: Bruna Isis, Luiza Maciel,
Maria Alicia, Ayla Sophia e Cauê Oliveira.

AGRADECIMENTOS

À minha amada orientadora professora **Dra. Deysi Viviana Tenazoa Wong**, pela orientação com tanta dedicação. Cujo coração é tão grande quanto sua habilidade científica. Agradeço pela paciência em ensinar, pela ética no fazer e pela empatia em cada processo da construção deste projeto. Palavras nunca serão suficientes para agradecer por ter me resgatado de um aquário e ter me lançado em um oceano de infinitas possibilidades. Gratidão por todos os conselhos, abraços e puxões de orelha que vem me tornando uma profissional mais competente e responsável.

Ao querido professor **Dr. Roberto César Pereira Lima-Júnior**, pela inspiração diária e por me fazer entender que o conhecimento é uma construção diária, ou seja, um tijolinho por dia. Um dia quero saber dar uma aula como ele. E ser tão competente quanto. Obrigada por toda ajuda em cada pedacinho deste lindo trabalho.

Ao professor **Dr. Paulo Roberto Carvalho de Almeida**, responsável pela leitura das lâminas e conversas sobre o câncer, cujo apoio foi fundamental para a realização do estudo. Costumo mencionar que ele foi o responsável por despertar meu atual fascínio por essa doença, cuja característica devastadora se entrelaça com o fascinante.

Ao **Pedro Ruan**, meu amigo e futuro oncologista, que foi meu braço direito durante a formação e maturação desse projeto. Se eu pudesse escolher um outro bolsista de iniciação científica, escolhê-lo-ia novamente.

À **Carol Teles**, que abraçou o projeto enquanto bolsista de iniciação científica e preencheu toda a planilha com os dados necessários para a pesquisa das pacientes, agora uma excelente médica, que eu infelizmente tive pouco contato.

À minha amiga, **Me. Isabelle de Fátima Camelo Maia**, integrante do Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer (LAFICA), por ser minha companheira diária, por toda contribuição acadêmica para a construção desse projeto e do meu currículo. Agradeço a alegria trazida aos meus dias durante essa intensa jornada. Esse caminho não seria o mesmo se não tivesse ela! E eu não seria a profissional que estou me tornando se não fosse a insistência dela em me tornar uma pessoa mais focada no que realmente é relevante.

À professora **Dra. Mariana Lima Vale**, por toda ajuda com materiais e metodologias de bancada e por sanar de sorriso aberto todas as minhas dúvidas durante a experimentação.

À professora **Dra. Delane Viana Gondim**, pelas conversas sinceras nos corredores e nas caronas que me encorajaram a sonhar e aspirar avançar.

À professora **Dra. Vilma de Lima** por sempre abrir as portas do seu laboratório e do seu coração e me receber com tanto carinho quando precisei utilizar qualquer material.

Aos demais integrantes do LAFICA, tais como **Aurilene Cajado, Nilza Maria, Aline Kimberly, Ariana Souza, Débora Menezes, Gisely de Lima, Jussara Rodrigues, João Antônio, Anamaria Falcão, Celia Choquenaira** por toda contribuição em minha formação. E em especial a **Dra. Diane Isabelle**, patologista que analisou com carinho cada amostra biológica e se tornou uma professora de vida, cultura e oncologia para mim.

À professora **Dra. Renata Leitão**, por nos oportunizar avançar com a pesquisa em seu laboratório (NEMPI) e disponibilizar os técnicos para ajudar no corte dos blocos.

À **Ludmila Gomes** e ao **Adalberto Nascimento** integrantes do laboratório NEMPI (Morfologia) por todo cuidado com as peças tumorais deste estudo, além de toda paciência ao me ensinar usar o micrômetro.

Ao **Instituto do Câncer do Ceará (ICC)**, que abriu as portas para nossa pesquisa e nos fez ter acesso às amostras das pacientes.

À **Dra. Maria do Socorro Perpétuo**, excelente patologista do ICC, por demarcar todas as lâminas do estudo e me explicar o processo patológico na carcinogênese.

À **Dra. Larissa Mont'alvern** pela disponibilização de pacientes e por sempre estar disponível para sanar as dúvidas que encontrei ao longo dessa jornada.

À **Vivian Trajano**, secretária da Pós no ICC, que se dispôs a me ajudar na pesquisa durante os trâmites burocráticos para adicionar pacientes.

Às **pacientes do ICC** que participaram desse estudo e se permitiram eternizar-se no avanço científico do país.

À professora **Dra. Silvia Rogatto** por todas as análises externas e pela parceria no estudo dessa fascinante doença.

Aos meus dentistas preferidos do Laboratório de OsteoFarmacologia, **Adália Samara, Rafael Reis e Alexandre Oliveira** pelos almoços animados de toda terça-feira.

Aos meus pais, **Maria Célia e Eudes Menezes** pelo dom da vida e por me

ensinarem sobre valores, respeito e caráter. Aos meus queridos tios, **Iolanda Lopes, Maria Jose, Cristina Lopes, Diana Lopes e Eridam Menezes, Ana Amélia, Luciano Dozol, Luís Lopes, Adilberto Bezerra** que sempre me apoiaram e me ajudaram no que precisei ao longo do Mestrado e da vida.

Aos meus pais espirituais, **Joana Darque e Francisco Alves**, cuja fé, força e colo são meus combustíveis nos dias bons e ruins.

Às profas. **Dra. Danielly Medeiros Rios e Dra. Gislainy Barbosa**, que foram minhas maiores inspirações durante o Ensino Médio e das quais tenho tantas saudades.

Aos **amigos do Supermercado Senna**, que entenderam minha ausência e mantiveram o carinho por mim durante esse processo.

Aos meus amigos da vida, **Railane Mendes, Giliard Soares, Rayanne Oliveira, Cristina Aguiar** são minha rede de apoio e foram tão essenciais na minha vida durante o mestrado.

Aos professores da banca de qualificação **Dra Raquel Montenegro, Dra Érika Mota, Dr Diego Wilke** e os da banca de defesa **Dra Silvia Rogatto e Dr Carlos Heli** pelo tempo determinado às correções para aprimorar essa dissertação.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)** pela bolsa de mestrado.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)** pelo apoio financeiro para a realização da pesquisa - Edital 29/2024 DANT Grant # 407015/2024-8 e Edital Universal 18/2021 Grant # 407381/2021-0.

À **Universidade Federal do Ceará (UFC)** pela incrível oportunidade de formação e contato com professores de mentes brilhantes.

Ao **Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM)** pela excelente infraestrutura disponível a cada estudante.

Ao **Deus** que me guia, sustenta-me e é tão bom para mim. Ele sempre me dá mais do que mereço. Eu jamais vi um amor tão grande!

“Os que confiam no Senhor são como os montes de Sião, que não se abalam, mas permanecem firmes para sempre.”

Salmos 125.1

RESUMO

IMUNOEXPRESSÃO DA PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASE DO TIPO RECEPTOR N2 NO CURSO CLÍNICO DO CARCINOMA INFLAMATÓRIO DA MAMA: ASSOCIAÇÃO COM MACRÓFAGOS E CÉLULAS ENDOTELIAIS

O Carcinoma Inflamatório da Mama (CIM) é uma apresentação clínica rara, que afeta de 1 a 5% dos pacientes com câncer de mama, com rápida evolução e prognóstico desfavorável. Ao cursar com sinais flogísticos de inflamação, tais como hiperemia, edema e dor, questiona-se uma entrelaçada contribuição do sistema imunológico, bem como o papel de tirosinas fosfatases em sua evolução. Indícios apontam um grande aliado na progressão neoplásica no CIM: o microambiente tumoral. Assim, hipotetizou-se que a Proteína Tirosina Fosfatase do Tipo Receptor N2 (PTPRN2), os macrófagos e as células endoteliais estão contribuindo para o curso clínico agressivo da doença. Entretanto, o papel da PTPRN2 no CIM não foi investigada, o que torna esse trabalho, inovador. Objetivou-se analisar a expressão de PTPRN2 no tumor primário e no tecido adjacente de carcinoma inflamatório, além de macrófagos (CD68) e células endoteliais (CD34) nos grupos CIM e CANI (Carcinoma Não Inflamatório), associando-os com parâmetros clínico-patológicos e curvas de sobrevida. Trata-se de um estudo retrospectivo transversal, com 34 pacientes incluídas, sendo 18 de CIM e 16 de CANI no Hospital Haroldo Juaçaba. A quantificação da expressão do PTPRN2, CD68 e CD34 foi analisada por imuno-histoquímica e imunofluorescência. A PTPRN2 demonstrou forte positividade citoplasmática nas células tumorais do tumor primário. Na análise intergrupar entre CIM e CANI, a idade média das pacientes foi de 57 anos, com a maioria apresentando sobrepeso/obesidade, Ki-67 superior a 20% e positividade para metástase à distância. Na expressão de PTPRN2, não foi visualizada diferença estatística pela análise do patologista e pelo histoescor. Por imunofluorescência, o percentual de área fluorescente para PTPRN2 foi aproximado entre os grupos. Entretanto, as amostras com presença de receptores hormonais e HER2 exibiram maior pontuação. Pela análise de deconvolução, a maior expressão de PTPRN2 foi vista nas amostras com prognóstico mais favorável. A avaliação da expressão de CD68 por imunofluorescência revelou maior infiltração de macrófagos nas amostras de CIM, com associação significativa em amostras HER2 amplificadas. Além disso, houve infiltração diferencial de células endoteliais no CIM em amostras com receptor de estrógeno negativo e subtipo molecular triplo negativo ($p < 0,05$). As curvas de sobrevida global

não apresentaram diferença. Na análise de correlação foi visualizado que PTPRN2 e CD68 estão negativamente correlacionados, enquanto CD68 e CD34 estão positivamente correlacionados. Dessa forma, o presente trabalho demonstra que a imunomarcção da PTPRN2 foi mais expressa no tumor primário que no tecido adjacente do CIM. Evidenciou-se maior expressão no subtipo Luminal e HER2 amplificado no CIM e CANI. Além disso, foi maior expressa em tumores iniciais não inflamatórios triplo negativo em relação ao CIM, indicando papel na doença. A infiltração de macrófagos e de células endoteliais se destacaram no microambiente tumoral CIM e estão correlacionados como potencializadores da doença.

Palavras-chave: PTPRN2; câncer; microambiente tumoral; biomarcadores moleculares.

ABSTRACT

IMMUNOEXPRESSION OF PROTEIN TYROSINE PHOSPHATASE RECEPTOR TYPE N2 IN THE CLINICAL COURSE OF INFLAMMATORY BREAST CANCER: ASSOCIATION WITH MACROPHAGES AND ENDOTHELIAL CELLS

Inflammatory Breast Carcinoma (IBC) is a rare clinical presentation, affecting 1 to 5% of breast cancer patients, with rapid progression and an unfavorable prognosis. Due to its inflammatory signs, such as hyperemia, edema, and pain, the intertwined roles of the immune system and tyrosine phosphatases in its progression are questioned. Evidence suggests a significant ally in neoplastic progression in IBC: the tumor microenvironment. Thus, it was hypothesized that the Protein Tyrosine Phosphatase Receptor N2 (PTPRN2), as well as macrophages and endothelial cells, contribute to the aggressive clinical course of the disease. However, the role of PTPRN2 in IBC has not been investigated, which makes this work innovative. This study aimed to analyze the expression of PTPRN2 in the primary tumor and adjacent tissue of inflammatory carcinoma, as well as macrophages (CD68) and endothelial cells (CD34) in the IBC and Non-IBC (Non-Inflammatory Carcinoma) groups, associating them with clinical-pathological parameters and survival curves. This is a retrospective, cross-sectional study of 34 patients, including 18 with IBC and 16 with non-IBC, at Haroldo Juaçaba Hospital. PTPRN2, CD68, and CD34 expression was quantified by immunohistochemistry and immunofluorescence. PTPRN2 demonstrated strong cytoplasmic positivity in the tumor cells. In the intergroup analysis between inflammatory and non-inflammatory breast carcinoma, the mean age of patients was 57 years, with most being overweight/obese, with Ki-67 greater than 20% and positive for distant metastasis. No statistical difference was observed in PTPRN2 expression, as determined by the pathologist's analysis or histoscore. By immunofluorescence, the percentage of fluorescent area for PTPRN2 was similar between the groups. However, samples with the presence of hormone receptors and HER2 exhibited higher scores. By deconvolution analysis, higher PTPRN2 expression of PTPRN2 was observed in samples with the most favorable prognosis. Evaluation of CD68 expression by immunofluorescence revealed greater macrophage infiltration in IBC samples, with a significant association in HER2-amplified samples. Furthermore, there was increased endothelial cell infiltration in IBC samples with negative estrogen receptor and triple-

negative molecular subtypes ($p < 0.05$). The global survival curve showed no difference. Correlation analysis showed that PTPRN2 and CD68 are negatively correlated, while CD68 and CD34 are positively correlated. Thus, the present study demonstrates that PTPRN2 immunostaining was more highly expressed in the primary tumor than in adjacent IBC tissue. Higher expression of the luminal subtype and amplified HER2 was observed in IBC and CANI. Furthermore, it was more highly expressed in early non-inflammatory triple-negative tumors compared to CIM, indicating a role in the disease. Macrophage and endothelial cell infiltration were prominent in the IBC tumor microenvironment and are correlated with disease progression.

Keywords: PTPRN2; cancer; tumoral microenvironment; molecular biomarkers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Prevalência de cânceres em 2022 em mulheres no Brasil.....	23
Figura 2 –	Fatores de risco associados ao desenvolvimento de câncer de mama....	24
Figura 3 –	Apresentação de sinais clínicos na mama com câncer inflamatório.....	30
Figura 4 –	Fotomicrografia de êmbolo tumoral invadindo vaso linfático.....	31
Figura 5 –	Possível envolvimento da PTPRN2 com vias de sinalização bem estabelecidas na carcinogênese.....	37
Figura 6 –	Conjunto de células e moléculas que se organizam no Microambiente Tumoral.....	39
Figura 7 –	Etapas metodológicas do estudo.....	50
Figura 8 –	Etapas das técnicas laboratoriais do estudo.....	51
Figura 9 –	Distribuição dos tipos de amostras por grupo incluídas no estudo.....	52
Figura 10 –	Diagrama da técnica de imuno-histoquímica.....	56
Figura 11 –	Intensidade de expressão proteica sob perspectiva do patologista.....	57
Figura 12 –	Produção de imagens por deconvolução a partir do ImageJ (Fiji).....	58
Figura 13 –	Diagrama da técnica de imunofluorescência.....	59
Figura 14 –	Fotomicrografias em Hematoxilina e Eosina (H&E) de amostras de tumor primário e tecido adjacente.....	61
Figura 15 –	Fotomicrografias de êmbolos tumorais invadindo vasos linfáticos da derme em diferentes aumentos.....	62
Figura 16 –	Quantificação da expressão de PTPRN2 por imunohistoquímica com amostras de tumor primário e tecido adjacente de pacientes com Carcinoma Inflamatório da Mama.....	65
Figura 17 –	Quantificação da expressão de PTPRN2 por imunofluorescência.....	66
Figura 18 –	Expressão discreta (escore 2) da proteína PTPRN2 em amostras de Carcinoma Inflamatório e Carcinoma Não Inflamatório da Mama.....	73
Figura 19 –	Avaliação das amostras de Tumor Primário a partir do Escore, Histoescor e porcentagem de coloração por Deconvolução para PTPRN2 no Carcinoma Inflamatório e Carcinoma Não Inflamatório....	75
Figura 20 –	Expressão de PTPRN2 de acordo com a imunofluorescência em Carcinoma Inflamatório e Carcinoma Não Inflamatório da Mama em amostras de Tumor Primário.....	77
Figura 21 –	Curva ROC para estimativa de ponto de corte de expressão por	

	imuno-histoquímica como preditor de resposta terapêutica.....	83
Figura 22 –	Fotomicrografias analisadas por imunofluorescência da imunoexpressão de PTPRN2 em Carcinoma Inflamatório.....	88
Figura 23 –	Avaliação da expressão de PTPRN2 em amostras de tumor primário classificadas por subtipo molecular.....	91
Figura 24 –	Curva de Kaplan-Meier da sobrevida global de pacientes com Carcinoma Inflamatório da Mama (CIM) e Carcinoma Não Inflamatório da Mama (CANI).....	92
Figura 25 –	Curva de Kaplan-Meier da sobrevida global de pacientes com Carcinoma Inflamatório da Mama (CIM) e Carcinoma Não Inflamatório da Mama (CANI) relacionando a expressão de proteína PTPRN2.....	93
Figura 26 –	Curva de Kaplan-Meier da sobrevida das pacientes com Carcinoma Inflamatório da Mama (CIM) e Carcinoma Não Inflamatório da Mama (CANI) relacionando aos subtipos moleculares.....	94
Figura 27 –	Quantificação da expressão de PTPRN2 por imunohistoquímica com amostras de tumor primário de pacientes com Carcinoma Inflamatório da Mama e em estágio clínico menos avançado.....	96
Figura 28 –	Expressão moderada e intensa da proteína PTPRN2 em amostras de Câncer de Mama Triplo Negativo de pacientes em estágio inicial.....	97
Figura 29 –	Expressão diferencial da proteína CD68 em amostras de CIM e CANI.	99
Figura 30 –	Avaliação da curva de sobrevida em associação a proteína CD68 em amostras de CIM e CANI.....	101
Figura 31 –	Expressão diferencial da proteína CD34 em amostras de CIM e CANI.	103
Figura 32 –	Curvas de sobrevida em associação a presença de proteína CD34 em amostras de CIM e CANI.....	105
Figura 33 –	Coeficiente de correlação de Spearman entre PTPRN2, CD68 e CD34.	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Parâmetros imunohistoquímicos determinantes na classificação molecular do câncer de mama.....	26
Tabela 2 –	Regimes terapêuticos determinados pela PCDT.....	29
Tabela 3 –	Intensidade de expressão da marcação por imunohistoquímica.....	56
Tabela 4 –	Escore da imunoexpressão de PTPRN2 analisada pelo patologista	63
Tabela 5 –	Características clínico-patológicas das pacientes com Carcinoma Inflamatório da Mama (CIM) e Carcinoma Não Inflamatório da Mama.....	70
Tabela 6 –	Escore da imunoexpressão de PTPRN2 analisada pelo patologista	71
Tabela 7 –	Imunomarcagem de amostras de Tumor Primário para PTPRN2 no Carcinoma Inflamatório e Carcinoma Não Inflamatório.....	72
Tabela 8 –	Intervalo do Histoescor da imunomarcagem para PTPRN2 no Carcinoma Inflamatório e Carcinoma Não Inflamatório somente amostras de Tumor Primário.....	78
Tabela 9 –	Associação da alta e baixa expressão por histoescor para PTPRN2 no Carcinoma Inflamatório e Não Inflamatório da Mama com parâmetros clínico-patológicos.....	79
Tabela 10 –	Associação da expressão de PTPRN2 por deconvolução com critérios clínicos-patológicos.....	82
Tabela 11 –	Associação da alta e baixa expressão da imunomarcagem por deconvolução para PTPRN2 no Carcinoma Inflamatório e Não Inflamatório da Mama com parâmetros clínicos-patológicos.....	84
Tabela 12 –	Imunofluorescência para PTPRN2 no Câncer de Mama com as variações clínicos-patológicos.....	87
Tabela 13 –	Associação da alta e baixa expressão da imunomarcagem por imunofluorescência para PTPRN2 no Carcinoma Inflamatório e Não Inflamatório da Mama com parâmetros clínico-patológicos.....	89
Tabela 14 –	Associação da expressão IF de CD68 com parâmetros clínico-patológicos.....	100
Tabela 15 –	Associação da expressão IF de CD34 com parâmetros clínico-patológicos.....	104
Tabela 16 –	Resumo da correlação entre as proteínas.....	106

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC-T	Doxorrubicina + Ciclofosfamida seguido de Taxano
AJCC	<i>American Joint Committe of Cancer</i>
BSA	Albumina Sérica Bovina
CA	Câncer
CANI	Carcinoma Não Inflamatório Da Mama
CDI	Carcinoma Ductal Invasivo
CD34	Glicoproteína Marcador de Células Precursoras Endoteliais
CD68	Proteína Marcadora de Macrófagos
CE	Células Endoteliais
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CM	Câncer de Mama
CMTN	Câncer de Mama Triplo Negativo
CLI	Carcinoma Lobular Invasivo
CIM	Carcinoma Inflamatório da Mama
CPE	Células Progenitoras Endoteliais
DAB	3,3-diaminobenzidina
DAPI	4',6'-diamino-2-fenil-indol
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DOX	Cloridrato de doxorrubicina
DP	Desvio Padrão
ERBB2	Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico Humano
H&E	Hematoxilina e Eosina
HER2	Fator de Crescimento Epidérmico Humano
HHJ	Hospital do Câncer Haroldo Juaçaba

IBC	Inflammatory Breast Cancer
ICC	Instituto do Câncer do Ceará
IHQ	Imuno-histoquímica
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IMC	Índice de Massa Corporal
LAFICA	Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer
MAT	Microambiente Tumoral
NF-kB	Fator Nuclear Kappa B
NPDM	Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos
OMS	Organização Mundial da Saúde
P	P valor
PAAF	Punção Aspirativa por Agulha Fina
PBS	Tampão Fosfato-Salino
PCDT	Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas
PGCC	Células Cancerígenas Gigantes Poliploides
PI3K	Fosfatidilinositol-3-quinase
PIP	Fosfatidilinositol
PH	Potencial Hidrogênico
PTPRN2	Proteína Tirosina Fosfatase do Tipo Receptor N2
PTX	Paclitaxel
QTneo	Quimioterapia Neoadjuvante
RE	Receptor de Estrógeno
RP	Receptor de Progesterona
RPC	Resposta Patológica Completa

STEM CELLS	Células-Tronco
SUS	Sistema Único de Saúde
TA	Tecido Adjacente
TAMs	<i>Tumor-Associated Macrophages</i>
TASY	Software de Gestão Hospitalar
TN	Triplo Negativo
TP	Tumor Primário
TNF	Fator de Necrose Tumoral
UECE	Universidade Estadual do Ceará
UFC	Universidade Federal do Ceará
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
g	Grama
M	Molar
mg	Miligrama
mL	Mililitro
μl	Microlitro
pH	Potencial hidrogeniônico
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1	REFERENCIAL TEÓRICO.....	23
1.1	Câncer de Mama.....	23
1.2	Carcinoma Inflamatório da Mama (CIM).....	30
1.3	Proteína Tirosina Fosfatase do Tipo Receptor N2 (PTPRN2).....	34
1.4	Microambiente tumoral no CIM.....	38
1.5	CD68: Glicoproteína marcadora de macrófagos.....	40
1.6	CD34: Glicoproteína marcadora de Célula Endotelial (CE) e Célula Precursora Endotelial (CPE).....	42
2	JUSTIFICATIVA.....	46
3	PERGUNTA DE PARTIDA.....	48
3.1	Hipótese a ser testada.....	48
4	OBJETIVOS.....	49
4.1	Objetivo geral.....	49
4.2	Objetivos Específicos.....	49
5	MÉTODOS.....	50
5.1	Tipo do Estudo.....	50
5.2	Fluxograma do estudo.....	50
5.3	Aspectos éticos da pesquisa.....	51
5.4	Cálculo Amostral.....	51
5.5	CrITÉrios de Inclusão.....	52
5.6	CrITÉrios de Exclusão.....	53
5.7	Carcinoma Não Inflamatório da Mama (CANI).....	53
5.8	Câncer de Mama Triplo Negativo não inflamatório em estágios iniciais.....	53
5.9	Riscos da pesquisa.....	54
5.10	Variáveis analisadas.....	54
5.11	Técnicas realizadas no LAFICA.....	55
5.11.1	Imuno-histoquímica.....	55
5.11.2	Histoescor e Ponderado.....	57
5.11.3	Deconvolução.....	57
5.11.4	Imunofluorescência.....	58
5.12	Análise Estatística.....	60

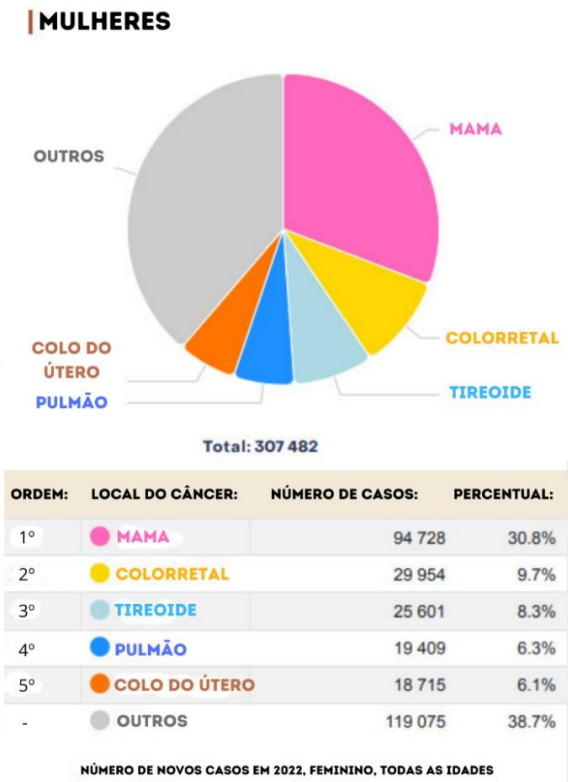
6	RESULTADOS.....	61
6.1	Análise histopatológica do Carcinoma Inflamatório da Mama.....	61
6.2	Análise da expressão de PTPRN2 em amostras de tumor primário e tecido adjacente não tumoral no carcinoma inflamatório da mama.....	63
6.3	Dados demográficos, clínico-patológico de pacientes com Carcinoma Inflamatório e não inflamatório da mama.....	67
6.4	Escore, Histoescor e Deconvolução para expressão de PTPRN2 na imuno-histoquímica.....	74
6.5	Avaliação da expressão de PTPRN2 em tumores primários por imunofluorescência.....	76
6.6	Avaliação da curva de sobrevivência.....	92
6.7	Expressão de PTPRN2 em tumores de mama triplo negativo em estágio inicial.....	95
6.8	Avaliação de macrófagos por imunofluorescência.....	98
6.9	Avaliação de células endoteliais por imunofluorescência.....	102
6.10	Avaliação da correlação de Spearman entre PTPRN2, macrófagos e células endoteliais.....	106
7	DISCUSSÃO.....	108
8	CONCLUSÃO.....	123
	REFERÊNCIAS.....	124
	APÊNDICE A - ARTIGO DE PUBLICAÇÃO.....	146
	APÊNDICE B – ARTIGO DE PUBLICAÇÃO.....	147
	ANEXO A - ESTADIAMENTO ANATÔMICO TNM, AJCC 7 EDIÇÃO.....	148

1. INTRODUÇÃO

1.1 Câncer de Mama

O Câncer de Mama (CM) avançou como um problema sanitário que prejudica milhares de mulheres ao redor do mundo, sendo o tipo de neoplasia mais diagnosticado em mulheres em 157 países diferentes, excluindo o câncer de pele não melanoma, tornando-se a principal causa de morte entre as mulheres (UICC, 2024). Só no Brasil, em 2022, o CM correspondeu 30,8% de todos os cânceres diagnosticados no público feminino, registrando 94.728 casos, como consta na **Figura 1** (GLOBOCAN, 2022). Embora o mundo tenha evoluído em número de tendências terapêuticas com novas técnicas de diagnóstico diferencial e tratamento personalizado (Bem-Dror *et al.*, 2022), é possível observar que as taxas continuam subindo cada vez mais. No Brasil, as estimativas para cada ano do triênio 2023-2025 apontam para uma incidência em torno de 73.610 novos casos de câncer de mama, portanto, a cada 100 mil mulheres, é expresso um risco de 66,54 novos casos, sendo 3.080 ocorrências apenas no Ceará (INCA, 2022).

Figura 1 – Prevalência de cânceres em 2022 em mulheres no Brasil



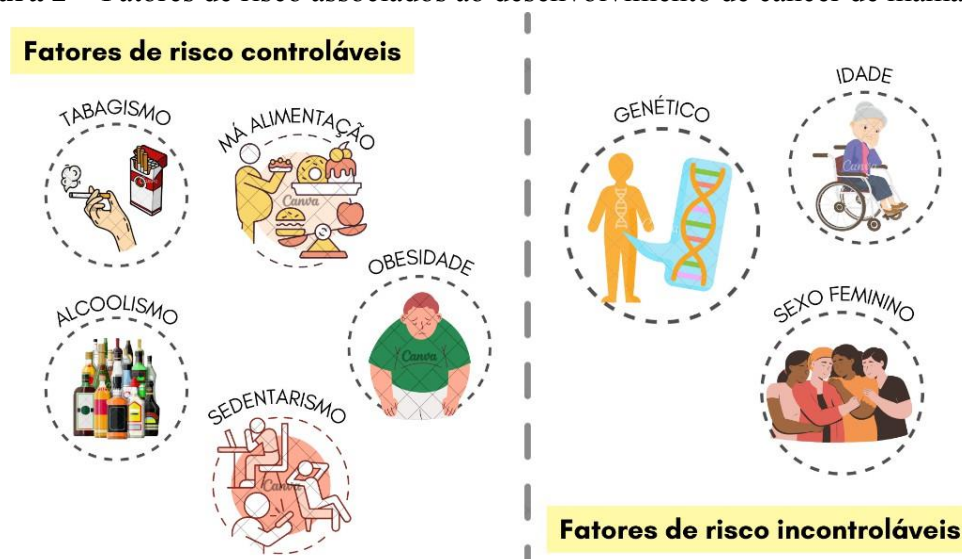
Fonte: Adaptado de GLOBOCAN 2022.
Legenda: O gráfico de setor faz uma representação proporcional ao número de cânceres que afetam a população feminina brasileira no ano de 2022. Cada setor do círculo separado por cor representa um tipo de neoplasia encontrado, sendo classificado por ordem de frequência. A cor cinza representa os tipos

de neoplasias menos frequentes. Assim, os dados foram representados pelo número total de casos seguido do seu percentual. O câncer de mama ocupou a primeira posição, seguido de câncer colorretal, tireoide, pulmão, colo do útero e outros.

No que se refere às taxas de mortalidade no Brasil, 17.825 óbitos foram contabilizados por câncer de mama em mulheres, equivalente a aproximadamente 17 mortes por 100 mil mulheres em 2020 (INCA, 2022). Na União Europeia, a taxa diminuiu de 15,0 em 2017 para 14,4 em 2021 a cada 100 mil mulheres. Enquanto nos países de transição houve um aumento médio de 1,9% nas taxas. Ao mesmo tempo em que a Dinamarca apresentou declínios favoráveis na mortalidade, Polônia e Romênia contrastaram com essas tendências (Wojtyla *et al.*, 2021). Corroborando as evidências de aumento da mortalidade por câncer de mama nos países subdesenvolvidos, o Brasil não acompanha as tendências e o avançado desenvolvimento dos países mais ricos.

Esses elevados números se associam com diferentes fatores de risco, podendo estes serem controláveis e não controláveis como indica a **Figura 2**. Para além dos fatores estimulantes já documentados, tais como consumo de álcool, uso prolongado de contraceptivos orais, idade avançada, menarca precoce, obesidade, envelhecimento populacional e até mesmo o aborto (Rojas *et al.*, 2016; Kashyap *et al.*, 2022). Em alguns países menos desenvolvidos, a falta de informação somada à dificuldade de acesso ao rastreamento, diagnóstico precoce e falta de tratamento são os principais desencadeadores (Porroche-Escudero, 2017). Embora haja países desenvolvidos com prevenção seletiva e demorada ou com privatização restritiva que restringe o acesso a uma grande população.

Figura 2 – Fatores de risco associados ao desenvolvimento de câncer de mama



Fonte: Autoria própria (2024).

Legenda: Na imagem estão representados alguns dos fatores de risco associados ao desenvolvimento do câncer de mama. Eles foram separados em fatores de risco controláveis, ou seja, que pode ser evitado ou

controlado com a adoção de um estilo de vida mais saudável e mais responsável, enquanto do lado oposto estão os fatores de risco que não se pode controlar, tais como idade, ser mulher e mutações ou interferências que ocorrem com o genoma, predispondo o aparecimento de doenças, como o câncer.

O câncer de mama é heterogêneo (Barzaman *et al.*, 2020), podendo apresentar-se em diferentes classificações morfológicas (Turashvili; Brogi, 2017), que vão abranger particularidades macroscópicas e microscópicas das células tumorais, distintas classificações histológicas (Weigelt *et al.*, 2010), que abordam o grau histológico do tumor e suas arquiteturas complexas, além de diferentes classificações moleculares (Zhang, 2023), que referenciam seus subtipos e status de receptores hormonais, sendo eles Receptor de Estrógeno (RE), Receptor de Progesterona (RP) e Receptor tipo 2 do fator de crescimento Epidérmico Humano (HER2), explorando ainda o índice proliferativo celular (Ki-67).

Em termos de classificação morfológica, temos bem documentado três tipos mais prevalentes de câncer de mama, sendo eles: Carcinoma Ductal Invasivo (CDI), que é o mais comum, originando-se nos ductos mamários, mas que pode se espalhar e invadir outras partes da mama; o Carcinoma Ductal *In Situ*, que é o menos preocupante, haja vista seu confinamento celular maligno aos ductos mamários; e o Carcinoma Lobular Invasivo (CLI), sendo o mais difícil de ser detectado devido sua tendência à multipolaridade e bilateralidade (Nolan *et al.*, 2023; Turashvili; Brogi, 2017). Uma alteração no sistema de estadiamento desconsiderou o carcinoma lobular *in situ* como um câncer maligno, agora ele é considerado benigno, embora ainda possa apresentar-se um marcador de risco aumentado para desenvolvimento de malignidade no futuro (Teichgraeber *et al.*, 2021).

Dentro da classificação histológica, uma análise microscópica mais minuciosa faz-se necessária, uma vez que está à mercê do grau de diferenciação celular tumoral exprimindo sua agressividade, e do tipo histológico, que espelha a arquitetura do tumor, com a presença ou ausência de necrose, êmbolos tumorais e/ou infiltração linfovascular. Além de ser possível mensurar o marcador de proliferação celular (Ki-67), que auxilia na avaliação da agressividade tumoral (Weigelt *et al.*, 2010). A diferenciação na biologia celular denota a maneira pela qual as células que estão se proliferando, possibilitando perceber respostas à mudança de fenótipo, sendo um procedimento dinâmico dirigido por diferentes fatores inter-relacionados, influenciando no sustento intra e intertumoral, na progressão e no prognóstico (Rakha *et al.*, 2022).

Já a classificação molecular faz menção à expressão de biomarcadores tumorais, como os receptores hormonais, RE e RP e a expressão ou amplificação do gene HER2 (Perou *et al.*, 2000). A equipe multidisciplinar da *American Joint Committee for Cancer*

(AJCC) revisou a nova edição do manual de estadiamento do câncer enfatizando os marcadores moleculares como mediadores somativos no prognóstico, na escolha e na resposta à terapia (Giuliano *et al.*, 2017). Dessa forma, o estadiamento TNM, que foi proposto em 1943 como forma de otimizar a linguagem dentro da comunidade internacional, vem sofrendo atualizações ao longo dos anos (Olawaiye *et al.* 2021). O TNM faz menção a classificação do tumor (T), dos linfonodos regionais (N) e das metástases à distância (M), que juntos fornecem informações importantes para o curso clínico da doença. Outrossim, cabe destacar na **Tabela 1** os quatro subtipos moleculares de carcinoma mamário mais comentados, dentre eles, Luminal A, Luminal B, Her2 amplificado e Triplo Negativo, que se distinguem entre si devido à expressão ou ausência diferencial de receptores hormonais (Zhang, 2023; Turashvili; Brogi, 2017).

Tabela 1 – Parâmetros imunohistoquímicos determinantes na classificação molecular do câncer de mama

	LUMINAL A	LUMINAL B	HER2	TRIPLO NEGATIVO
RE	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
RP	Positivo	Positivo ou Negativo	Negativo	Negativo
HER2	Negativo	Positivo ou Negativo	Positivo	Negativo
Ki67	<14%	≥14%	-	-

Fonte: Adaptado de HE *et al.*, 2019

Legenda: RE: receptor de estrógeno; RP: receptor de progesterona; HER2: receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano; Ki67: índice de proliferação celular.

Luminal A e Luminal B são os mais comuns dentre os subtipos moleculares, pois abrangem cerca de 60% dos cânceres de mama e são designados pela expressão de RE e melhores taxas de resposta patológica, embora não haja diferença significativa na expressão dos receptores de estrógeno (Zhang, 2023). O HER2 amplificado é o subtipo mais homogêneo em termo molecular, uma vez que é caracterizado apenas com a superexpressão de HER2 (Provenzano *et al.*, 2018), apresentando alto grau histológico e comportamento agressivo. Entretanto, os tumores apresentando essas características são mais sensíveis à quimioterapia convencional com resposta considerável, otimizando a sobrevida das pacientes (Zhang, 2023). O grau histológico supracitado, está de acordo com o Sistema de Pontuação de Nottingham, que determina um escore de classificação em graus 1, 2 e 3 para as células tumorais, indicando quão diferentes elas se tornaram das células normais (Rakha *et al.*, 2008).

O triplo negativo, por sua vez, é identificado pela ausência de receptores

hormonais e HER2 por imuno-histoquímica, sendo molecularmente diferente, com comportamento clínico agressivo e pobre prognóstico (Derakhshan *et al.*, 2022; Zhang, 2023; Katie *et al.*, 2010), sendo mais raro e difícil de ser tratado (Patel *et al.*, 2024). Há evidências indicando que esses tumores triplo negativos surgem com maior frequência em mulheres que apresentam mutações no gene BRCA 1/2 e em mulheres mais jovens com etnia africana ou hispânica (Katie *et al.*, 2010), levando a novos estudos em um campo transdisciplinar de pesquisa que ultimamente tem sido evidenciado: a antropologia oncológica (Newman, 2023; Newman; Kaljee, 2017), que estuda a influência da carga genética e epigenética das diferentes raças e etnias na carcinogênese.

A classificação do CM está diretamente relacionada à escolha dos esquemas terapêuticos (Fisusi; Akala, 2019), disponibilizados nos Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) de Câncer de Mama, cuja sigla remete a documentos que determinam critérios para o diagnóstico, tratamento e recomendações de conduta a serem devidamente seguidos pelos gestores do Sistema Único de Saúde (SUS), a fim de obter segurança, efetividade e melhor resultado terapêutico e prognóstico dos casos.

O tratamento neoadjuvante surgiu como uma alternativa pré-cirúrgica, que apresenta objetivos como a diminuição do tamanho tumoral, a fim de que este se torne operável, a otimização visando uma cirurgia mais conservadora e local, a avaliação da quimiossensibilidade *in vivo* e ao tratamento de possíveis micrometástases existentes (Choquenaira-Quispe, 2023), além de disponibilizar informações acerca da possível resposta individual de cada paciente quanto a um regime quimioterápico (Asselain *et al.*, 2018). Dentre os grupos farmacológicos e regimes existentes mais utilizados estão os Taxanos (T) e as Antraciclinas (A) (Choquenaira-Quispe, 2023). Dentro do grupo dos taxanos encontramos docetaxel (DTX) e paclitaxel (PTX) como os mais optados, já no grupo das antraciclinas temos a doxorrubicina (DOX). Na maioria das vezes faz-se uso de esquemas terapêuticos antineoplásicos combinados a outros tipos de fármacos com diferentes mecanismos de ação para potencializar a resposta do organismo, como é o caso da ciclofosfamida, um agente alquilante de DNA (Fisusi; Akala, 2019; Jones; Brodsky, 2009).

Enquanto taxanos possuem a capacidade de interferir no ciclo celular, resultando no bloqueio da metáfase com a estabilização dos microtúbulos no ciclo mitótico, as antraciclinas são capazes de inibir a topoisomerase II, impedindo a replicação do DNA, ambas levando à morte celular (Katzung; Trevor, 2017; Brasil, 2024). Estudos vêm abordando a potencialidade desses grupos farmacológicos na apresentação de uma maior taxa de resposta patológica completa e diminuição no número de óbitos, como é o caso da

meta-análise de Asselain e colaboradores (2018), onde expuseram estudos com três grupos de mulheres classificadas quanto ao regime neoadjuvante a qual foram submetidas, com isso, o grupo que não recebeu antraciclina ou taxano teve uma taxa de mortalidade de 34%, enquanto pacientes que receberam antraciclina sem taxano tiveram uma taxa de mortalidade de 40%, já pacientes que tiveram acesso às duas classes farmacológicas, a taxa foi reduzida a 14% (Asselain *et al.*, 2018).

Já a terapia adjuvante é indicada quando há risco considerável de recidiva locorregional ou sistêmica, e é realizada cronologicamente após terapia primária (que em câncer de mama, é a cirurgia, conservadora ou não) em pacientes submetidos ou não a radioterapia (Fisusi; Akala, 2019). Na **Tabela 2** estão apresentados alguns dos atuais regimes terapêuticos neoadjuvantes e adjuvantes no câncer de mama:

Tabela 2 - Regimes terapêuticos determinados pela PCDT

REGIME	DESCRIÇÃO	MECANISMO DE AÇÃO
AC	Doxorrubicina + ciclofosfamida	Ações citotóxicas, ligando-se ao DNA e inibindo a topoisomerase II e alquilam o DNA impedindo a replicação celular, respectivamente.
AC-T	Doxorrubicina + ciclofosfamida, associado ou não a fatores estimuladores de colônias de macrófagos/granulócitos, seguido de docetaxel e paclitaxel	Taxanos (docetaxel ou paclitaxel) atuam nos microtúbulos, estabilizando-os no estado polimerizado.
FAC	Ciclofosfamida + doxorrubicina + 5-fluorouracil	5-Fluorouracil é um análogo de pirimidina que interfere na síntese de timidilato (DTMP) e, consequentemente, na síntese de DNA.
FEC	Ciclofosfamida + epirrubicina + 5-fluorouracil	Epirrubicina é uma antraciclina com ação citotóxica, sendo bem menos cardiotóxica.
CMF	Ciclofosfamida + metotrexato + 5-fluorouracil	Metotrexato inibe a síntese de purinas e possui ação sobre a síntese do DTMP.
TAC	Docetaxel + doxorrubicina + ciclofosfamida	-

Fonte: Adaptada de Brasil (2024).

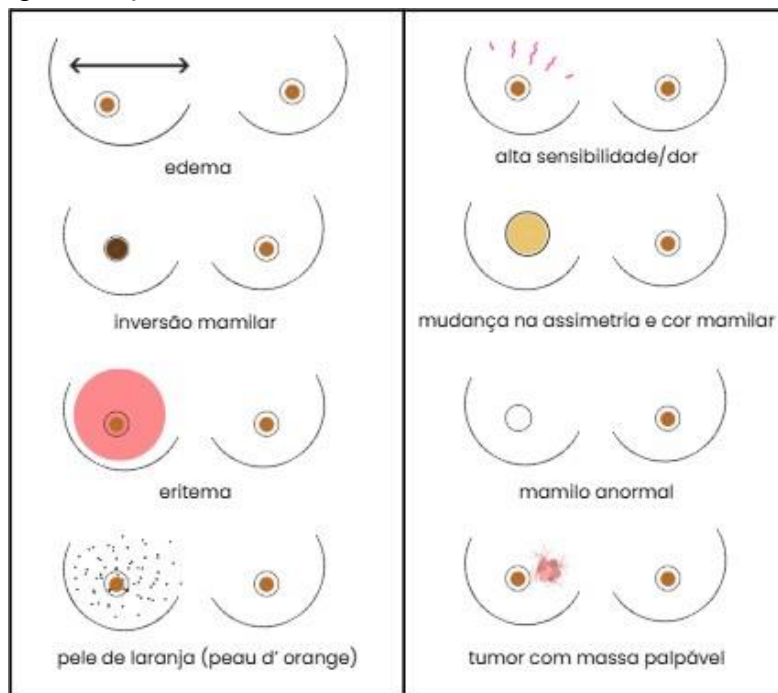
Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas: AC (Antraciclina e Ciclofosfamida); AC-T (Antraciclina, Ciclofosfamida e Taxano); FAC (5-Fluorouracil, Antraciclina e Ciclofosfamida); FEC (5-Fluorouracil, Epirrubicina e Ciclofosfamida); CMF (Ciclofosfamida, Metotrexato e 5-Fluorouracil) e TAC (Taxanos, Antraciclina e Ciclofosfamida).

Embora tenha havido evidentes avanços, alguns subtipos de neoplasia de mama seguem com um pobre prognóstico (Sarhangi *et al.*, 2022), como destaca-se uma apresentação clínica bastante incomum e de extrema necessidade de pesquisas, cuja patogênese ainda não foi completamente estabelecida: o Carcinoma Inflamatório da Mama.

1.2 Carcinoma Inflamatório da Mama (CIM)

O Carcinoma Inflamatório da Mama (CIM) é uma apresentação clínica de câncer de mama incomum, potencialmente agressivo e de mau prognóstico (Cristofanilli *et al.*, 2007), diferentemente do Carcinoma Não Inflamatório da Mama (CANI), cuja prevalência na sociedade é apontada, sobretudo entre a parcela mais periférica com baixo acesso aos sistemas integrados de saúde e com idade mais avançada (Rocha Filho, 2017; Aguiar *et. al.*, 2018). Os critérios clínicos mostrados na **Figura 3** são peculiares e lembram processos inflamatórios na mama (Singletary; Cristofanilli, 2008). Dentre eles, podemos citar dor, eritema difuso em mais de um terço da mama, edema ou espessamento cutâneo, aumento da temperatura local, inchaço, ingurgitamento da mama com mudanças na pele, como aspecto *peau d'orange* (no qual o seio mimetiza uma casca de laranja), anormalidades no mamilo e presença de êmbolos tumorais em canais linfáticos da derme (Jagsi *et al.*, 2022).

Figura 3 – Apresentação de sinais clínicos na mama com câncer inflamatório



Fonte: Adaptado de Morrow *et al.*, (2017).

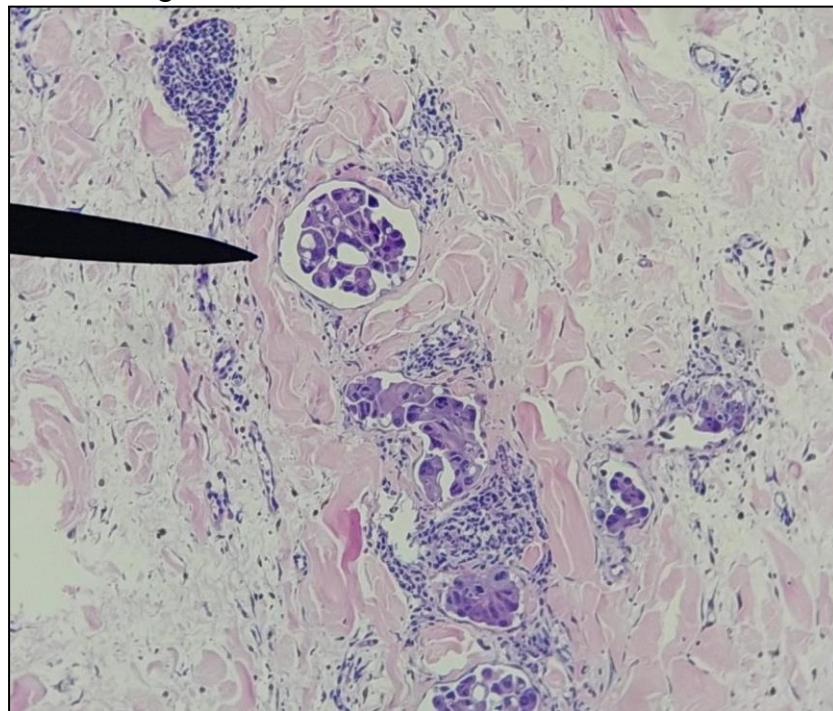
Legenda: Desenho representativo de oito mamas contendo características clínicas presentes em pacientes diagnosticadas com câncer de mama inflamatório. Alguns como casca em pele de laranja representada com bastante pontos pretos no desenho é um dos sinais mais específicos da doença, seguido de eritema e edema.

Uma das marcas patológicas fortes do CIM é a inexistência de uma massa tumoral palpável em cerca de 50% das pacientes diagnosticadas (Fouad *et al.*, 2017),

contribuindo para a diagnóstico errado e confuso de mastite ou algum processo infeccioso na mama, levando os pacientes a passarem por tratamentos com antibióticos por um período prolongado antes do diagnóstico acurado (Singletary; Cristofanilli, 2008). Ou ainda, há relatos que durante a biópsia as pacientes sentem bastante dor e desconforto, favorecendo o limitado número de amostras e diagnóstico preciso (Lim *et al.*, 2018). Por isso, um dos manejos médicos realizados baseia-se na fotografia dos seios das pacientes após cada procedimento terapêutico, como forma de acompanhar a evolução da aparência clínica/física mediante resposta ao tratamento com antibióticos ou sem (Singletary; Cristofanilli, 2008).

Além disso, a identificação de lesões microscópicas chamadas êmbolos tumorais linfovasculares, cuja definição aponta para células tumorais que se descolam do tumor primário e possuem capacidade de invadir a corrente sanguínea e os vasos linfáticos dérmicos (**Figura 4**), sendo outra marca que merece grande destaque na biologia do CIM (Rosen, 2001). Embora não seja específico da doença, sua identificação complementa o diagnóstico, podendo servir ainda de explicação para os diversos eventos na progressão tumoral (Fouad *et al.*, 2017; Jagsi *et al.*, 2022).

Figura 4 – Fotomicrografia de êmbolo tumoral invadindo vaso linfático



Fonte: Dados da pesquisa, 2025.

Legenda: A fotomicrografia apresenta três êmbolos tumorais dentro de vasos linfáticos. A ponta da seta preta está apontando para o êmbolo tumoral mais superior na imagem. Aumento de 200× é visualizado.

O comportamento agressivo associado ao crescente acúmulo de dados sobre suas características moleculares e epidemiológicas únicas, sustentam a hipótese de que o CIM pode ser uma entidade biológica distinta (Robertson *et al.*, 2010; Charafe-Jauffret *et al.*, 2008) e multicêntrica (Fouad *et al.*, 2017), cujo conceito refere-se a uma doença potencialmente sistêmica. Uma das assinaturas imunofenotípicas do CIM é a frequência de tumores RE negativo, predispondo-os a se apresentarem com pior grau histológico, como triplo-negativo e HER2 amplificado (Charafe-Jauffret *et al.*, 2008) que, como já descrito, são os subtipos mais desfavoráveis, com grande influência no cenário de sobrevida (Somlo *et al.*, 2004).

Outra característica intrínseca ao CIM que contribui para sua rápida progressão e agressividade é a inclinação à intensa angiogênese e alta atividade proliferativa das células (Charafe-Jauffret *et al.*, 2008), resultando em sua potencial disseminação sistêmica. Sendo essa uma peculiaridade potencialmente responsável pela habilidade metastática local e à distância que essa doença possui (Robertson *et al.*, 2010; Charafe-Jauffret *et al.*, 2008). Dessa forma, investiga-se a contribuição do ambiente hipóxico para o exacerbado perfil angiogênico (Colpaert *et al.*, 2003), uma vez que esse perfil hipóxico é capaz de afetar o comportamento das células cancerígenas (Dekker *et al.*, 2022).

Diante da potencialidade à metástase, CIM possui pior prognóstico e piores resultados (Menta *et al.*, 2018), acredita-se que suas células possuem características distintas que o tornam peculiar (Silvera; Schneider, 2009). E essa rápida progressão da doença leva o tempo de sobrevida livre de doença ser inferior a cinco anos (Dawood *et al.*, 2011; Boussen *et al.*, 2008), mesmo com as opções de tratamento multimodal existentes (Levine; Veneroso, 2008). No mais, a importância em estudar essa doença finca-se na necessidade de detalhar mais sobre sua patogênese e estabelecer bem os seus aspectos, principalmente no que tange às suas variações em sua apresentação, influenciada pela raça, etnia e localidade (Robertson *et al.*, 2010).

Hodiernamente o manejo clínico do CIM consiste em terapia sistêmica, cirurgia e radioterapia, mas ainda há necessidade de estruturação de esquema terapêutico mais preciso e com foco molecular na identificação de novos alvos (van Golen, 2024). Portanto, terapias-alvo com especificidade para o CIM ainda não estão disponíveis, embora diferentes funções na biologia das vias de sinalização tenham sido atualmente investigadas e descritas (Wang *et al.*, 2020), abrindo margens para um direcionamento na compreensão de novas abordagens terapêuticas específicas (Yamauchi *et al.*, 2012).

No que se refere aos fatores de risco, uma classificação descritiva indica que o

CIM pode estar associado a distintos padrões de risco alteráveis, sobretudo entre grupos étnicos (Fouad *et al.*, 2018). Diferentes estudos têm trazido a metilação do DNA no carcinoma inflamatório como fator de alto risco, tanto em suas características como na terapêutica (Faldoni *et al.*, 2020; Van der Auwera *et al.*, 2009; Mohamed *et al.*, 2014). Além disso, estudos apontam que ser mulher, ser negra e ter raízes africanas aumentam a chance em até 50% de desenvolver carcinoma inflamatório da mama (Hance *et al.*, 2005; Levine *et al.*, 2008), além do álcool e exposição química (Levine; Veneroso, 2021). Especula-se que essas premissas possam ser respondidas a partir da epigenética. Assunto que hodiernamente tem sido bastante associado ao CIM.

E por que a epigenética torna-se tão importante no estudo do câncer? Porque há diferentes estudos confirmando que o panorama epigenético é modificado no câncer humano (Esteller, 2011). A epigenética consiste na mudança da expressão gênica por fatores ambientais sem lesar a sequência original de DNA (Feinberg; Levchenko, 2023). Dentre os mecanismos epigenéticos, podemos destacar a metilação do DNA, as modificações de histonas e os fatores de remodelamento da cromatina associados ao posicionamento nucleossomal (Feinberg, 2007; Ahmad *et al.*, 2017) conforme interajam de maneira supressora ou ativadora de genes supressores tumorais interferindo em vias de sinalização.

Além da diversidade de vias ativadas no carcinoma inflamatório, pesquisas atuais têm investido esforços no perfil genômico da doença. Achados revelaram que há uma frequência elevada de alterações genômicas no CIM (Ross *et al.*, 2015). Van der Auwera e colaboradores (2009) descobriram que a frequência de metilação de dois genes, sendo eles RARbeta2 e APC, foram substancialmente maiores em pacientes com câncer inflamatório do que em pacientes com câncer não inflamatório, concluindo que esses genes podem fortalecer um pilar para a classificação molecular da doença.

Apesar do CM ser extremamente estudado, pesquisas atuais começaram a pensar no tecido peritumoral como preditor de respostas e determinante no curso da doença. Lau e colaboradores (2023) trazem o papel da diversidade estromal decorrente de um microambiente tumoral modificado afetando a progressão da doença como um tema mal compreendido na tumorigênese (Lau *et al.*, 2023). Gadaleta e colaboradores (2022) trazem à tona um termo criado em 1953, a cancerização de campo, teoria que atribui à contaminação dos tecidos histologicamente normais às células tumorais, tratando o tecido adjacente normal como um campo sutilmente alterado capaz de predispor à progressão da doença (Gadaleta *et al.*, 2022).

Esses estudos nos levam a refletir que seria interessante trabalhar com o tecido

peritumoral e a influência do tumor em sua presença, ou vice-versa. Com isso, o presente estudo busca caminhos investigativos que abranjam cenários adjacentes ao tumor, além de perspectivas emergentes com a busca de biomarcadores moleculares que possam estar envolvidos com o curso clínico da doença.

A busca por biomarcadores no CIM tem aberto um amplo espaço promissor para perguntas e pesquisas que otimizam e direcionam o conhecimento sobre suas multifaces. Recentemente, pesquisadores identificaram e descreveram uma proteína tirosina fosfatase atuando de forma importante nas modificações epigenéticas durante a evolução das células tumorais em distintas variações de neoplasias, incluindo no câncer de mama (Sorokin *et al.*, 2015). Ela é denominada Proteína Tirosina Fosfatase do tipo Receptor N2 (PTPRN2), e esses achados propõem um cenário de modificação epigenética revelador na patogenia do CIM. Por isso PTPRN2 tornou-se um possível biomarcador promissor na investigação de novos marcadores prognósticos no CIM.

1.3 Proteína Tirosina Fosfatase do Tipo Receptor N2 (PTPRN2)

A Proteína Tirosina Fosfatase do Tipo Receptor N2 (PTPRN2) é participante da família das Proteínas Tirosina Fosfatase (PTPs), enquadrando-se na categoria de proteínas fosfatases clássicas, uma vez que possui especificidade na remoção de grupos fosfato (PO₄) dos resíduos de tirosina controlada por ligante e é similar a receptores transmembranares (Tonks, 2006; Chiarugi, 2005). A heterogeneidade nos domínios reguladores determina diferentes características importantes dentro do grupo, como sua localização subcelular, interações com proteínas e moléculas, especificidade do substrato e atividade fisiológica (Nunes-Xavier, 2019).

As proteínas fosfatases se distinguiram em famílias distintas, enquanto as proteínas quinases evoluíram de um único ancestral comum (Tonks, 2006) e, embora sejam mecânica e estruturalmente diferentes, quinases e fosfatases tendem a trabalhar em conjunto em vias de sinalização (Hornberg *et al.*, 2005). Enquanto a quinase amplifica a sinalização, o controle da duração da resposta fica à mercê da fosfatase (Hornberg *et al.*, 2005).

As Proteínas Semelhantes a Receptores Transmembranares (RPTPs) demonstram propriedades de moléculas de adesão celular em sua porção extracelular e sua atividade tem sido implicada no domínio PTP (Tonks, 2006). Uma estrutura desse tipo possibilita a conexão direta entre os eventos mediados pela adesão extracelular e a regulação de vias de sinalização dentro da célula (Xu; Fisher, 2012). Entretanto, a PTPRN2 foi codificada com ausência de atividade fosfatase, em decorrência de uma crítica variante em

seus aminoácidos no domínio catalítico, por uma troca da alanina pelo ácido aspartico (Magistrelli, 1996). Quando Magistrelli (1996) alterou bioquimicamente as variantes modificadas em sua estrutura, a PTPRN2 apresentou atividade fosfatase como suas irmãs. Em contrapartida, um estudo vai retificar essa ideia, debatendo que, embora PTPRN2 não seja tão ativa quanto suas semelhantes, ela pode apresentar funções enzimáticas sutis, como exemplo do modelo em câncer de mama que foi publicado demonstrando que a PTPRN2 foi responsável pela regulação da dinâmica da actina, ao promover metástase e migração das células por meio da atividade fosfatidilinositol fosfatase nos ajustes do nível de PI(4,5)P2 na membrana plasmática (Sengelaub *et al.*, 2016).

O gene que codifica a proteína PTPRN2 está posicionada na banda do cromossomo telômero 7q36.3 nos humanos e pode ser encontrada associada à membrana plasmática (Nunes-Xavier, 2019), sendo descrita com diferentes nomenclaturas, tais como fgrina, IAR, ICAAR, PTP-NP, IA-2 β e NE-6 (Gulino *et al.*, 2021). Ela foi primariamente descrita como o principal auto antígeno β -celular pancreático para o diabetes mellitus tipo 1 (Van den Maagdenberg *et al.*, 1998), algum tempo depois seu excelente papel na secreção de insulina também foi publicado (Caromile *et al.*, 2010), e atualmente pode ser encontrada em cenários clínicos distintos, tais como em tumores de próstata (Yin *et al.*, 2021), de mama (Sengelaub *et al.*, 2016) e de meningioma (Sadagopan *et al.*, 2023) e com contribuição na preservação reprodutiva de camundongos (Sokanovic *et al.*, 2023).

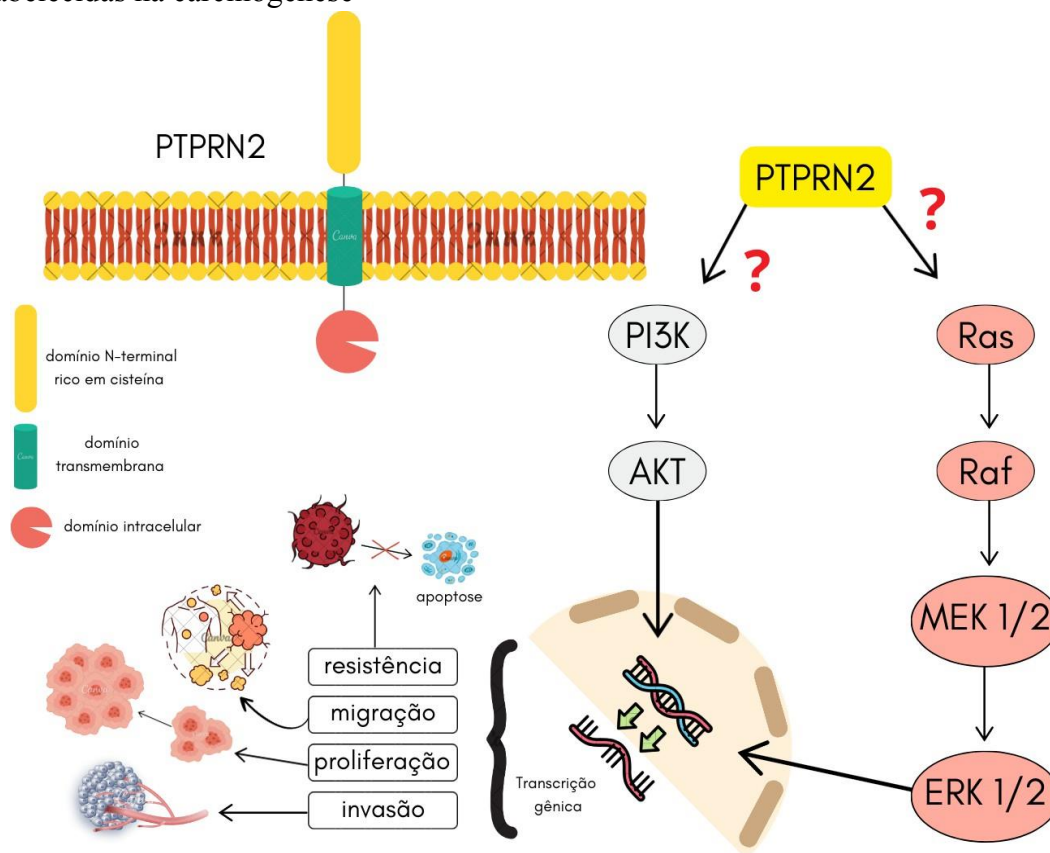
Uma vez que PTPRN2 está expressa em tecidos humanos normais, surgem evidências que em diferentes tipos de neoplasias sua expressão pode estar aumentada, interferindo de forma prognóstica em alguma etapa do curso clínico da doença (Yin; Guo, 2021). Ela foi identificada com inferências em diferentes tipos de câncer, incluindo o câncer de mama. Dentre esses estudos, encontrou-se uma isoforma imatura da PTPRN2 com uma expressão aumentada além do normal no tecido neoplásico mamário, o que potencializou a resistência à apoptose nas células cancerígenas da mama, conferindo um valor prognóstico (Sorokin *et al.*, 2015).

Diante dos seus papéis-chave na regulação de crescimento e sobrevivência celular, várias funções oncogênicas e supressoras tumorais foram exclusivamente conferidas a alguns membros das PTPs clássicas, e algumas dessas enzimas estão sendo estudadas e sugeridas como propícios alvos na terapia anticancerígena (Nunes-Xavier, 2019; Zhengyuan *et al.*, 2023). Dentre elas, a PTPRN2 tem ganhado destaque nas investigações oncológicas por ter sido revelado um papel positivo na invasão e progressão do câncer colorretal (Yin *et al.*, 2021). O que sugere um papel oncogenico na neoplasia.

Além disso, Zhengyuan e colaboradores (2023) buscaram descrever o papel das Proteínas Tirosina Fosfatase do Tipo Receptor (PTPRs) no câncer, e observaram que grande parte está comprometida com proliferação, apoptose e migração de células tumorais humanas através da fosforilação reversível de resíduos de tirosina e consequentemente da manutenção de vias de sinalização já conhecidas na carcinogênese. Diante da classificação em oito subfamílias de PTPRs, as proteínas PTPRN2 e PTPRN foram agrupadas na subfamília R8, consideradas proteínas promotoras do desenvolvimento tumoral por interferirem em vias de sinalização já conhecidas na carcinogênese, como a PTPRN associada a via PI3K/AKT e via Ras (Zhengyuan *et al.*, 2023). A relação da proteína PTPRN2 com essas vias de sinalização ainda não está totalmente estabelecida e documentada na literatura, mas há razões para considerar uma possível associação, principalmente quanto ao seu papel na progressão tumoral como ilustrada na **Figura 5**. Diante disso, experimentos complementares como um *docking* molecular, cultivo celular ou plataformas de organoides seriam necessários para entender um pouco mais sobre a PTPRN2 e sua interferência nessas vias.

Dado esse possível envolvimento molecular com vias de sinalização associadas ao aparecimento do câncer, pode ser uma informação a mais somada ao papel na progressão tumoral que está sendo estabelecido para a PTPRN2 ao longo dos anos. Uma vez que a alta expressão de PTPRN2 tem sido fortemente correlacionada com pior prognóstico e resultado clínico ruim no câncer de mama (Sorokin *et al.*, 2015), bem como na resposta prejudicial aos inibidores de *checkpoint* imunológicos associados ao KLK2 no câncer de próstata (Paniagua-Herranz *et al.*, 2024). De acordo com esses achados de padrão de expressão de PTPRN2 e sua relação com resultados prognósticos desfavoráveis, a PTPRN2 pode vir a ser um oportuno biomarcador preditivo de prognóstico no carcinoma inflamatório mamário.

Figura 5 – Possível envolvimento da PTPRN2 com vias de sinalização bem estabelecidas na carcinogênese



Fonte: Autoria própria (2025).

Legenda: A interação da PTPRN2 com vias de sinalização PI3K/AKT e Ras ainda não está estabelecida, mas desconfia-se que PTPRN2 esteja indiretamente envolvida com elas através da desfosforilação de fosfatidilinosíteis na membrana plasmática, desequilibrando a ativação de PI3K/AKT e Ras.

A arquitetura proteica e molecular pode ser resultado da acumulação de diferentes mutações causada por fatores diversos e distintos, como a metilação do DNA, a ativação de oncogenes e de genes que trabalham na supressão tumoral (Ilango *et al.*, 2020) como discutido no início do trabalho. Relatam-se diversas proteínas associadas a alterações genéticas e epigenéticas, gerando um ambiente oportuno para modificações na expressão gênica nas neoplasias. A expressão de PTPRN2, por sua vez, tem sido recorrentemente relacionada a padrões epigenéticos em diferentes doenças, principalmente no câncer. Nesse contexto, uma das razões que potencializaram a progressão maligna do câncer colorretal foi a correlação positiva entre PTPRN2 e ativação de mecanismos de metilação se relacionando positivamente ao gene homeobox (HOX), a partir de mecanismos de hipermetilação (Yin; Guo, 2021).

Outrossim, um estudo pesquisando a contribuição da correlação epigenética de PTPRN2 com o desenvolvimento da obesidade infantil encontrou ilha CpG geneticamente controlada cg158269415 de PTPRN2 com sinais de metilação em crianças com IMC

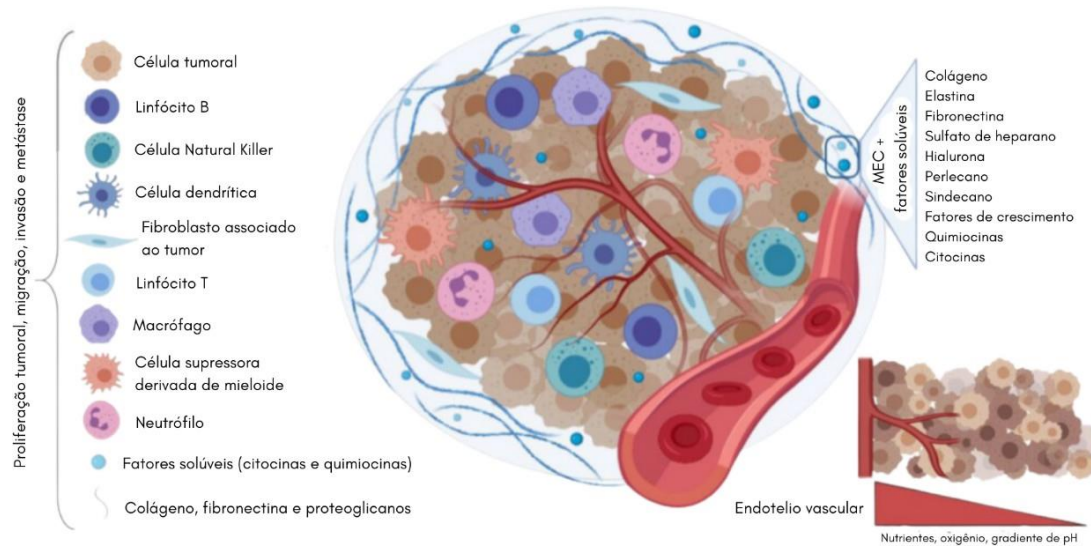
elevado, sugerindo que essa relação pode estar sendo um processo contributivo no desenvolvimento da doença que atinge o público infantil (Lee, 2019), sendo esse resultado de grande importância, uma vez que possibilita espaços para discussão e questionamentos, contribuindo para as pesquisas já documentadas sobre os fatores de risco do CIM, como o alto nível de massa corpórea (Schairer *et al.*, 2013). Embora a expressão de PTPRN2 em diferentes cânceres tenha sido publicada ao longo dos anos, ainda não há documentada a investigação da expressão e do potencial papel da PTPRN2 no CIM. Por isso, aqui busca-se analisar a expressão da proteína em amostras de tumor e tecido adjacente em pacientes com CIM, descrever a correlação com características clínico-patológicas dessas pacientes, visando analisar a exequibilidade de PTPRN2 como um novo biomarcador prognóstico no CIM e a interação entre células do sistema imunológico e células cancerígenas moldando a progressão tumoral.

1.4 Microambiente tumoral no CIM

Nos anos 2000, Hanahan e Weinberg (2000) descreveram seis propriedades que tornam as células saudáveis em células malignas, com crescimento desordenado. Dentre elas, a resistência à morte celular programada (apoptose), a ausência de resposta a sinais que inibem o crescimento, a capacidade de crescer independentemente de sinais externos, a habilidade de invasão a tecidos circundantes, a capacidade de se replicar indefinidamente e a manutenção da angiogênese (Hanahan; Weinberg, 2000). Historicamente, acreditava-se que células cancerígenas por si só eram capazes de orquestrar tamanha performance na neoplasia (Onuchic; Chammas, 2010).

Outrora vistas apenas como um conjunto de células que se orquestram para tentar destruir o tumor, auxiliando na homeostase, atualmente as células do sistema imunológico têm sido estudadas dentro de um ambiente que nutre, fortalece e ajuda a progressão neoplásica: o Microambiente Tumoral (MAT). Há alguns anos o MAT vem ganhando melhor compreensão diante da sua complexidade e sustentação ao câncer (De Visser; Joyce, 2023). Ele é definido como uma rede complexa de células não cancerígenas, moléculas, compostos e estruturas ao redor das células malignas que favorecem a estruturação, nutrição, expansão e avanço do câncer (Arneth, 2019; Noy; Pollard, 2014) como mostrado na **Figura 6**.

Figura 6 – Conjunto de células e moléculas que se organizam no Microambiente Tumoral



Fonte: Adaptado do site faCellitate:

<https://facellitate.com/es/the-importance-of-the-tumor-microenvironment-in-cancer-research/>

Legenda: Representação do microambiente tumoral com diferentes células circundando o tumor (células representadas em marrom são as células tumorais, enquanto o conjunto de células e moléculas que formam o microambiente tumoral estão em diferentes cores).

Ele é composto por fibroblastos, células endoteliais, células do sistema imunológico, tais como macrófagos, células T, células dendríticas, estroma, citocinas e proteínas, sendo essas células do sistema imune geralmente inflamatórias (Freitas, 2019). E são exatamente essas células não malignas que apresentam função cambiante e de sustentação em diferentes estágios da carcinogênese (Hanahan; Coussens, 2012).

Portanto, o câncer não está isolado e nem progride de maneira solitária (Arneth, 2019). Além disso, o *crosstalk* entre o tumor e o microambiente tumoral resulta em efeitos variáveis, os quais potencializam a expansão tumoral e seu curso clínico e patológico (Watnick, 2012). Wang & Han (2018) afirmam que o acompanhamento das modificações no MAT será essencial na caracterização de novos alvos fazendo uso de seu status celular e molecular conforme o tumor se desenvolve. Adicionalmente, o reconhecimento de vias moleculares que cooperam para a mobilidade e invasão das células cancerígenas é primordial para compreensão de como se dá o início da motilidade celular tumoral e como o próprio microambiente rege a migração dessas células tumorais (Wang; Eddy; Condeelis, 2007). Dessa forma, as células não malignas também passam a ter suas funções determinadas pelas células cancerígenas (Freitas, 2019).

Há estudos que reportam que cada câncer tem seu próprio microambiente tumoral composto por uma variedade de células que se organizam para sustentar aquele tipo de tumor (Buttura, 2021; Freitas, 2019). No que tange ao CM, o suporte do estroma mamário com seus diferentes componentes extracelulares e células não tumorais atuam na estruturação da malignidade celular e na progressão tumoral (Silva *et al.*, 2016). O câncer inflamatório da mama segue esse padrão, pois dentro do seu MAT têm-se diferentes tipos de células individuais residindo, cada um com suas distintas cooperações biológicas interagindo de maneira proativa e dinâmica a fim de incorporar um microambiente singular para as células do CIM (Lim; Woodward; Wang *et al.*, 2018). Portanto, diversos estudos têm-se concentrado em descrever a relevância do MAT para o estabelecimento e progressão do CIM (Morrow; Etemadi; Yeo; Ernst, 2017).

Pesquisas sugerem que o papel do microambiente é crítico para o fenótipo molecular no CIM, tanto pelo contato próximo quanto pela liberação de citocinas (Woodward *et al.*, 2015; Di Bonito *et al.*, 2019). A relevância do estudo do MAT dentro das neoplasias, sobretudo no CIM, abre margens para o entendimento da patogênese tumoral e para desenvolvimento de estratégias terapêuticas no tratamento alvo. Ao passo em que o método tradicional antigo, que consiste no combate limitado e focado nas células neoplásicas, vem perdendo seu lugar de destaque e sendo modificado por aplicações de tratamentos que abrangem também o microambiente tumoral (Xiao; Yu, 2021). Pois, se não for possível combater as células cancerígenas propriamente dita, o conjunto de moléculas e de células não malignas infiltradas no microambiente tumoral torna viável o acesso à arquitetura tumoral, podendo ser um meio mais direto de atingir o tumor, seu crescimento e sua progressão (Wang *et al.*, 2018).

Nesse estudo o foco está na investigação da expressão de macrófagos e de células endoteliais em amostras de pacientes com CIM.

1.5 CD68: Glicoproteína marcadora de macrófagos

Dentro do microambiente tumoral há uma célula com capacidade fagocítica que está presente em todos os estágios da progressão tumoral: o macrófago (Noy e Pollard; Jeffrey, 2014). Os macrófagos são um grupo de células que se apresentam de forma inomogênea, tanto em características externas e secretoras quanto funcionais e estruturais, apresentando variáveis formas que são definidas a partir de sua funcionalidade e maturação, possuindo papel bem definido na homeostase e reparação tecidual (Appelberg, 2005). Eles estão entre as células da imunidade inata mais abundante no MAT (Christofides *et al.*,

2022). Devido sua função fagocítica, sua morfologia de fácil identificação contribui com quantidade significativa de lisossomas, dentro dos quais concentram-se diferentes enzimas hidrolíticas com efetiva atividade em pH acidificado, tais como glicosilases, lipases e nucleases (Appelberg, 2005) possibilitando a digestão dos elementos e partículas.

Há uma plasticidade intrínseca do macrófago no contexto das doenças, sobretudo no câncer, uma vez que eles podem se distinguir em dois fenótipos, sendo: Macrófago M1 e Macrófago M2 (Boutillier e Elsawa, 2021). Eles possuem participação ativa na resposta imune, na inflamação e na homeostase dos tecidos, portanto, a depender das condições e dos estímulos do MAT, irão se diferenciar em M1 ou M2 (Pan *et al.*, 2020).

Macrófagos com perfil M1 são caracterizadas células pró-inflamatórias, com capacidade de orquestrar respostas citotóxicas no tumor, ao produzir e liberar citocinas próinflamatórias, como Interleucina 1 e 12 (IL1, IL-12), além de possuírem resposta na imunidade inata contra invasão patogênica (Boutillier e Elsawa, 2021). Com isso, o fenótipo M1 exercerá um papel anti-tumoral.

Em contrapartida, ao invés de apresentarem capacidade tumoricida mediante sua natureza, os macrófagos com perfil M2, assumirão um fenótipo que vai passar a favorecer o tumor, ou seja, passarão a apresentar um status pró-tumoral (Christofides *et al.*, 2022). Os macrófagos M2 são células anti-inflamatórias que regulam a remodelação tecidual, angiogênese e cicatrização de feridas. Eles secretam citocinas anti-inflamatórias como IL-4 e a IL-13, que estão envolvidas em processos anti-inflamatórios. Os macrófagos M2 são os chamados Macrófagos Associados aos Tumores (TAMs).

Nos últimos anos, inúmeros estudos concentraram suas pesquisas oncológicas destacando o papel dos TAMs como potencializadores neoplásicos (Vitale *et al.*, 2019; Gajewski *et al.*, 2013). Noy e Pollard (2014) fizeram uma pesquisa ampliando a visão dos mecanismos de ação dos TAMs destacando os macrófagos como impulsionadores da angiogênese, da invasão e da mobilidade das células malignas no tumor primário, enquanto preparam o campo para a metástase.

Os TAMs possuem uma representação significativa, entre 50 a 80% no MAT e promovem o desenvolvimento tumoral de formas peculiares, como no controle das respostas imunes resultando na indução do crescimento e sobrevivência tumoral (Aras; Zaidi, 2017), com promoção do nicho pré-metastático no local secundário da neoplasia (Doak *et al.*, 2018) e contribuição na resistência das células cancerígenas com possível recidiva após tratamento (Mehraj *et al.*, 2021). Estudos exprimem uma comunicação direta entre células tumorais e macrófagos resultando na saída de células malignas para o sangue, através de um

processo chamado intravasamento (Noy; Pollard, 2014). No mais, outros achados afirmam que os TAMs não se restringem a um tipo tumoral ou a um estágio específico, pelo contrário, podem atuar em qualquer estágio e independentemente da classe tumoral (Pan *et al.*, 2020; Mantovani *et al.*, 2017).

Diante disso, pesquisadores decidiram visualizar a relação dos TAMs com células malignas de CIM e a correlação com suas particularidades, incluindo o pior prognóstico. A infiltração de TAMs no CIM sugere um papel no comportamento próprio da patologia em contraste com o câncer de mama não inflamatório (Morrow *et al.*, 2017). Outro grupo de pesquisadores também buscou identificar a influência dos macrófagos no CIM, através do uso de meio condicionado por macrófagos em linhagens de células de CIM e descobriram que esse meio foi capaz de preparar a maquinaria celular do carcinoma inflamatório para, em resposta a um quimioatraente, tornar-se exageradamente migratória (Allen *et al.*, 2016).

Estudos têm focado suas pesquisas na resistência surpreendente do CIM ao tratamento, e achados levam a discussão da contribuição dos TAMs na resistência à quimioterapia e radioterapia, supostamente essa premissa se relaciona com a secreção de fatores que promovem a sobrevivência das células cancerígenas (Rahal *et al.*, 2018). Numerosos trabalhos publicados envolvendo a ablação de macrófagos no tumor resultam na diminuição da taxa de metástase e progressão tumoral. Por essa razão, pesquisas têm sido desenvolvidas no intuito de viabilizar a complexidade do sistema imunológico como ferramenta de combate a agressividade no CIM (Lim *et al.*, 2018; Rahal *et al.*, 2018).

CD68 é uma glicoproteína panmacrofágica, ou seja, ela marca macrófagos do tipo M0 e foi utilizada no estudo para verificação da infiltração desse tipo celular no carcinoma inflamatório, a fim de identificar qual sua relação com a progressão e agressividade desse subtipo agressivo, uma vez que estudos afirmam que os macrófagos habitam no centro de um microambiente de invasão (Condeelis; Pollard, 2006).

1.6 CD34: Glicoproteína marcadora de Célula Endotelial (CE) e Célula Precursora Endotelial (CPE)

Algumas células não imunológicas que fazem parte do microambiente tumoral desempenham compromisso com a carcinogênese, de maneira que interagem com o curso patológico e até mesmo podem estar envolvidas com a agressividade no CIM, como é o caso das Células Precursoras Endoteliais (CPEs) e Células Endoteliais (CEs) (Lim *et al.*, 2018). CPEs são um subtipo de células que expõem marcadores endoteliais, liberadas da medula

óssea na corrente sanguínea para desenvolvimento de novos vasos em resposta a estímulos específicos (Asahara *et al.*, 1997). Essas células possuem sinalização parácrina, o que permite uma viável comunicação com células vizinhas, de forma a coordenar atividades (Debatin *et al.*, 2008).

No mais, como já bem definido e discutido, o tumor não se nutre sozinho, no entanto, necessita de todo aporte estromal somado ao MAT para progredir rumo à metástase (De Visser; Joyce, 2023). As células endoteliais podem ser encontradas no MAT auxiliando na progressão do tumor, visto que são extremamente comprometidas com a expansão da vasculatura por meio da atuação na angiogênese, imunomodulação e suporte à microvasculatura que está se formando (Mikalsen *et al.*, 2011). A concepção dos vasos sanguíneos relacionada ao tumor está à mercê da angiogênese, sendo seu resultado mais promissor, visto que é uma das mais importantes assinaturas já registradas no câncer, responsável pela extensão e desenvolvimento tumoral, fazendo com que ele se espalhe por todo o organismo (Pereira *et al.*, 2008). A angiogênese é um dos processos mais importantes para a sobrevivência e difusão do tecido maligno (Boutillier; Elswa, 2021).

As proteínas da família CD34 apresentam padrões de expressão sobrepostos e têm um domínio extracelular abundante em prolina, serina e treonina. Então, assim como componentes que fazem parte de sua morfologia extracelular podem desempenhar papel na regulação da adesão celular, outros da estrutura intracelular podem favorecer uma ligação com o citoesqueleto de actina e diversas proteínas intracelulares (Radu *et al.*, 2023). Assim, coerente com alguns de seus mecanismos de ação, como o tráfego de células e formação de vasos, CD34 tem sido ligada e associada ao curso progressivo do câncer (Pereira *et al.*, 2008). Ela passou a ficar mais conhecida e referida em muitas pesquisas oncológicas, uma vez que a formação de novos vasos mediada pela presença de células precursoras endoteliais é essencial para desencadear a metástase, estágio implacável de muita agressividade (Karar; Maity, 2011).

CD34 foi estudada no câncer de mama, câncer gástrico, câncer colorretal e câncer de pele e pesquisadores continuam utilizando essa proteína como biomarcador para avaliar a presença e abundância da angiogênese em diferentes neoplasias (Pereira *et al.*, 2008; Mikalsen *et al.*, 2011). No que tange ao carcinoma inflamatório da mama, estudos enfatizam a presença abundante de CD34 em suas amostras facilitando e/ou promovendo a formação de novos vasos sanguíneos e metástase (Lim *et al.*, 2018). Além disso, destacam que esse tipo de tumor é capaz de apresentar maior expressão de RNAm de fatores angiogênicos, a saber VEGF, Ang1 e Ang2 em relação aos tumores de câncer não

inflamatórios (Shirakawa *et al.*, 2002).

Como evidenciado neste trabalho acima, há um forte indício apontado para um papel ativo e efetivo da CD34, na progressão e prognóstico do câncer, até mesmo com relação ao tratamento e resistência (Lim *et al.*, 2018). Desse modo, a análise da infiltração de células endoteliais (CD34) em amostras de carcinoma inflamatório da mama e não inflamatório poderá oferecer subsídios para determinar sua relação com padrões clínico-patológicos.

Um trabalho utilizando indução tumoral em camundongos, buscou demonstrar o envolvimento potencial de CD34 no desenvolvimento do tumor tanto em animais com a proteína em questão quanto em animais que não possuíam a proteína CD34 (*knockout*) em seus tumores. Os resultados revelaram que os animais *knockout* para CD34 não foram capazes de formar novos vasos, ou seja, incapazes de ativar a angiogênese tumoral, enquanto animais que possuíam CD34 mostraram uma arquitetura tumoral diferente (Clarke *et al.*, 2006). Há ainda um estudo realizado com modelos de xenoenxerto de CIM que seus dados preliminares apontam para uma inibição do crescimento do tumor através do bloqueio e inibição das vias VEGF (Shirakawa *et al.*, 2002), o que pode ser um excelente achado, visto que as diversas citocinas secretadas pelas células endoteliais vasculares são capazes de ativar a angiogênese, como o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (Lim *et al.*, 2018).

Já se tem bem documentado que os pacientes oncológicos possuem maior volume de CPEs circulantes, visto que o tumor necessita de neovascularização para manter-se vivo e nutrido para progredir (Nishida *et al.*, 2022). Em alguns estudos já revelado que há abundante infiltração de células endoteliais linfáticas dentro dos tumores de CIM, apoiando a hipótese dessas células estarem estritamente relacionadas à apresentação agressiva desse subtipo de câncer de mama (Lim *et al.*, 2018). Mediante a essa presença efetiva e elevada das CPEs e das CEs no processo de neoangiogênese tumoral, torna-se viável fundamentar e direcionar terapias alvo utilizando-as como veículo para atingir e atacar o tumor (Hassanpour *et al.*, 2023).

No que tange à terapia do câncer, os pesquisadores e a literatura existente trazem as células progenitoras endoteliais como favorável meio de chegar ao tumor, uma vez que seu alvo específico também são os tumores (Debatin; Wei; Beltinger, 2008). Essas células são capazes de penetrar, adentrar, migrar para dentro da massa tumoral e se associar à arquitetura do tumor (Hassanpour *et al.*, 2023). Assim, atuais pesquisas sobre terapia de tumores têm focado no microambiente tumoral, uma vez que se tem visto maiores respostas

ao tratamento com direcionamento específico (Wang *et al.*, 2018).

Diante do que foi exposto, esse trabalho visa pesquisar a diferença da imunoexpressão de diferentes biomarcadores no carcinoma inflamatório da mama e associá-los aos parâmetros clínicos e patológicos, possível personalização terapêutica, abrindo margem para melhor entendimento da patogênese e do curso clínico da doença, e otimização do pobre prognóstico que atualmente é a realidade dessa neoplasia.

2. JUSTIFICATIVA

Embora o câncer de mama tenha uma enorme importância epidemiológica a nível mundial, exibindo diversos estudos complexos que exploram sua patogênese, suas facetas, sua biologia e suas diferentes manifestações clínicas, histológicas e morfológicas, existe uma apresentação clínica de câncer de mama que ainda carece de informações e estudos: o Carcinoma Inflamatório da Mama. Entretanto, ainda que a ciência cresça em paralelo com a tecnologia e tenha havido aperfeiçoamento de técnicas e exames para o detecção precoce, o CIM carece de um padrão clínico que dificulta seu adequado diagnóstico, impactando na eficácia do tratamento e prognóstico.

Dados preliminares de expressão gênica no carcinoma inflamatório permitiu a visualização de uma enorme ilha CpG hipometilada na região da Proteína Tirosina Fosfatase do tipo Receptor N2. Esses dados sugerem fortes relações do CIM com a epigenética, uma vez que alterações epigenéticas, como metilação do DNA e modificações de histonas, proporcionam expressão gênica modificada nas doenças. Os processos dinâmicos, genéticos e epigenéticos que ocorrem no CIM podem levar ao aumento ou supressão de genes supressores ou pró-tumorais, potencializando a agressividade dessa neoplasia. Esses dados serviram como cerne para o presente estudo que visa caracterizar a presença e a influência da PTPRN2 como contribuinte da patogênese e agressividade no carcinoma inflamatório da mama em amostras teciduais de tumor primário em uma coorte independente, reforçando a reprodutibilidade dos dados e fortalecendo tais achados.

Adicionalmente, o CIM possui marcas idiossincráticas registradas que o diferencia de outros subtipos avançados de câncer de mama, tais como presença de êmbolos tumorais, alto potencial metastático, grande envolvimento linfonodal e epidérmico, aumentado *crosstalk* de suas células com o microambiente tumoral e características locais que mimetizam processos inflamatórios, como dor, eritema, edema e aspecto em casca de laranja, o que levanta a hipótese do envolvimento do sistema imunológico no processo da patogenicidade, tornando-se necessário o reconhecimento de células, moléculas e processos envolvidos.

Historicamente, o sistema imunológico foi compreendido majoritariamente como agente de defesa contra o processo carcinogênico. Entretanto, atuais evidências demonstram que as células que o compõem são as mesmas presentes no microambiente tumoral, atuando na articulação de mecanismos que sustentam a progressão do câncer. A escolha de duas células que fazem parte do MAT neste estudo (macrófagos e células

endoteliais) foi motivada por achados prévios obtidos por um grupo parceiro, cujas evidências a partir da expressão gênica aumentada desses marcadores, identificaram-nos como componentes do MAT que participam da biologia tumoral do carcinoma inflamatório. Assim, este estudo visa validar esses resultados em um grupo independente, conforme a compreensão da presença e do papel desses marcadores no comportamento da doença seja fortalecida.

Portanto, o estudo irá investigar a imunoexpressão de PTPRN2, a infiltração de macrófagos e de células endoteliais e sua associação com parâmetros clínicos e fenótipo do microambiente tumoral. Sendo de extrema relevância, pois uma vez estudados e validados como possíveis novos marcadores biológicos para o prognóstico, aumentará o conhecimento da doença. Pois a identificação de novos biomarcadores moleculares têm sido a chave para indicar condições biológicas com bastante aplicações potenciais, sobretudo na oncologia de precisão.

3. PERGUNTA DE PARTIDA

A presença de PTPRN2, macrófagos e células endoteliais influenciam na progressão tumoral, no estado clínico e no perfil prognóstico de pacientes diagnosticadas com Carcinoma Inflamatório da Mama?

3.1 Hipótese a ser testada

A presença da proteína PTPRN2, dos macrófagos e das células endoteliais nas pacientes com Carcinoma Inflamatório da Mama influenciam na inflamação, na invasão e na metástase potencializando as características clínicas da doença e sua extrema agressividade.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Examinar se a expressão de PTPRN2 nas células tumorais e a infiltração de macrófagos e de células endoteliais no microambiente tumoral em amostras de tumor primário de Carcinoma Inflamatório da Mama (CIM) e Carcinoma Não Inflamatório da Mama (CANI) estão influenciando nos parâmetros clínico-patológicos.

4.2 Objetivos Específicos

- Analisar a expressão de PTPRN2 entre tumor e tecido adjacente das pacientes com CIM.
- Caracterizar o perfil sociodemográfico, clínico e patológico de pacientes diagnosticadas com CIM e CANI em tumores primários.
- Descrever a associação da PTPRN2, dos macrófagos e das células endoteliais com os dados clínicos e patológicos, como tamanho tumoral, acometimento linfonodal, grau histológico, receptores hormonais, estadiamento e recidiva nos Carcinoma Inflamatório e Não Inflamatório da Mama.
- Analisar a curva de sobrevida global em carcinoma inflamatório e não inflamatório da mama e associar com os níveis de expressão de PTPRN2, macrófagos e células endoteliais.
- Correlacionar a expressão de PTPRN2 com a infiltração de macrófagos e células endoteliais.
- Analisar a expressão de PTPRN2 em tumores iniciais não inflamatórios com subtipo molecular triplo negativo em relação ao tumor avançado CIM.

5. MÉTODOS

5.1 Tipo de Estudo

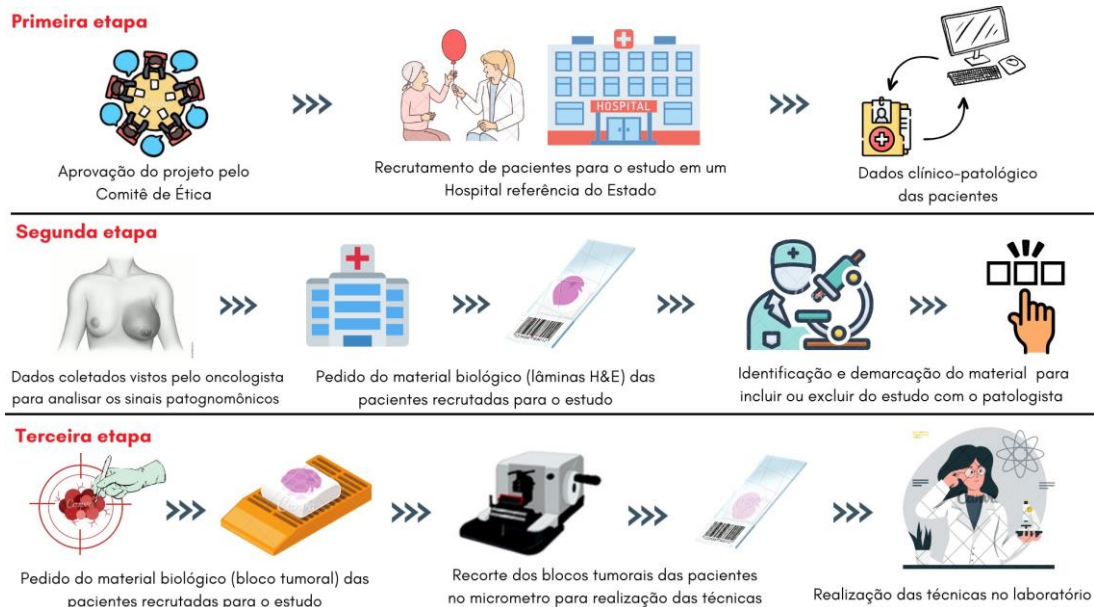
Trata-se de um estudo retrospectivo, transversal com amostras não impactadas por quimioterapia neoadjuvante de pacientes diagnosticadas com Carcinoma Inflamatório e Carcinoma Não-Inflamatório da Mama. Adicionalmente, uma pequena coorte de pacientes com tumor inicial não inflamatório triplo negativo foi adicionada para análise comparativa. O período de inclusão dos blocos analisados foi de janeiro de 2015 a dezembro de 2021.

5.2 Fluxograma do estudo

O presente trabalho foi dividido em uma sequência de etapas, descritas a seguir:

I- Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa; II- Aplicação dos critérios de inclusão e exclusão do estudo; III- Filtragem dos dados clínicos-patológicos por oncologistas, demarcação do material com lâminas de Hematoxilina e Eosina (H&E) por patologistas e recorte dos blocos tumorais das pacientes; IV- Imuno-histoquímica para os marcadores PTPRN2 e CD34 e Imunofluorescência para os marcadores PTPRN2, CD68 e CD34. A **Figuras 7 e 8** a seguir ilustram o resumo das etapas adotadas neste estudo:

Figura 7 – Etapas metodológicas do estudo



Fonte: Elaboração autoral (2025).

Legenda: Fluxograma demonstrativo das etapas metodológicas do estudo, que vão desde a submissão e aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) até a realização de experimentos laboratoriais com o material biológico das pacientes. As fases incluem análise de dados clínico e patológicos das pacientes, seguido da seleção e exclusão de pacientes, pedido dos materiais biológicos e preparo das amostras, identificação do material por um profissional qualificado e análise histopatológica e preparo de material para realização de experimentação laboratorial técnica e científica para busca de novos biomarcadores.

Figura 8 – Etapas das técnicas laboratoriais do estudo
Imuno-histoquímica



Imunofluorescência



Fonte: Elaboração autoral (2025).

Legenda: Esquema resumido das etapas de imuno-histoquímica e imunofluorescência utilizadas como metodologia experimental no estudo. O processo inicia pelo preparo das lâminas e incubação dos anticorpos até a revelação por DAB+ (cromógeno com precipitado marrom) e fluorescência (anticorpo conjugado com fluoróforo), seguindo para as fotomicrografias para posterior quantificação e análise.

5.3 Aspectos éticos da pesquisa

O presente projeto encontra-se aprovado no CEP - Comitê de Ética em Pesquisa - do Hospital Haroldo Juaçaba / Instituto do Câncer do Ceará (ICC), de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde- CONEP (Nº aprovação CEP: 5.010.710 / CAAE: 51815621.4.0000.552) e das normas legais que regulamentam a pesquisa em seres humanos do Conselho Nacional de Saúde, de acordo com a resolução nº 251/97. O documento encontra-se anexado na seção de anexos. O uso das amostras do arquivo foi realizado após assinatura do Termo de Fiel Depositário.

5.4 Cálculo Amostral

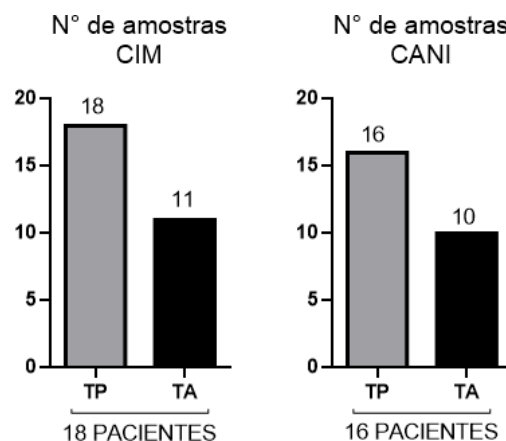
O cálculo do tamanho da amostra para o estudo clínico considerou um escore z para o intervalo de confiança de 95%, erro amostral (E, 5% (total da proporção de casos)), a proporção (p, 5%) da frequência de câncer de mama inflamatório na população estudada e a proporção de indivíduos com outros tipos de câncer de mama ($q = 1 - p$), indicando um tamanho amostral de mais ou menos 50-60 para o estudo, levando em consideração as intercorrências, como as perdas.

Tendo em vista a raridade da doença, pode-se considerar que ao longo de um ano, o serviço de oncologia clínica incluído no estudo atende uma quantidade pequena de pacientes com probabilidade de receber diagnóstico de Carcinoma Inflamatório da Mama,

que são submetidas a punção por agulha fina (PAAF) ou cirurgia para retirada do nódulo, por isso estimou-se a inclusão de cerca de 20 pacientes com a doença.

Para a inclusão das pacientes no estudo, foram coletados dados clínicos referentes a sinais suspeitos de carcinoma inflamatório da mama, bem como estadiamento e diagnóstico. Esses dados foram organizados em planilha e avaliados por oncologista responsável, a fim de selecionar as candidatas elegíveis. Após a seleção, os blocos de tecido das pacientes foram solicitados e analisados por patologista, que realizou a demarcação das áreas tumoral e peritumorais. Ao final, foram incluídos 34 pacientes com diagnóstico de carcinoma mamário avançado atendidas no Hospital Haroldo Juaçaba, das quais foram obtidas 29 amostras de Carcinoma Inflamatório da Mama e 26 amostras de Carcinoma Não Inflamatório da Mama, totalizando 55 amostras. Estas foram classificadas em Tumor Primário (TP) e Tecido Adjacente (TA), conforme representada na **Figura 9**.

Figura 9 – Distribuição dos tipos de amostras por grupo incluídas no estudo



Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: O grupo CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama) possui um N de 18 pacientes, com 18 tumores primário e apenas 11 amostras de tecido adjacente; enquanto o grupo CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama) possui um N de 16 pacientes, com 16 tumores e 10 de tecidos adjacente. (TP, TA: tumor primário, tecido adjacente).

5.5 Critérios de Inclusão

1. Pacientes com diagnóstico clínico de CIM, ou seja, T4d com sinais inflamatórios da mama como vermelhidão, edema ou sinais de casca de laranja.
2. Amostra tumoral satisfatória e bem fixadas;
3. Material arquivado e conservado em parafina.

5.6 Critérios de Exclusão

1. Amostras sem material bom para corte devido às inadequadas dimensões e mal fixadas para avaliação das técnicas de imuno-histoquímica e imunofluorescência de PTPRN2, CD68 e CD34.
2. Pacientes com diagnóstico de mastite.

5.7 Carcinoma Não Inflamatório da Mama

O Carcinoma Não Inflamatório da Mama (CANI) foi utilizado como grupo controle no estudo, uma vez que desempenha papel essencial para análises comparativas com o grupo CIM, facilitando na compreensão das diferenças biológicas, patológicas e clínicas entre as duas doenças. Foram escolhidas amostras de tumor primário de pacientes em estado avançado de câncer de mama, com uma grande porcentagem de células tumorais, especificamente no estadiamento T3 e T4 seguindo estritamente os critérios de inclusão e exclusão logo abaixo.

Os pesquisadores envolvidos no projeto estiveram presentes na busca ativa para o recrutamento de pacientes na plataforma TASY durante dois dias na semana. O contato com os médicos oncologistas que disponibilizavam listas de pacientes atendidos durante o mês/ano foi essencial para a inclusão de novos pacientes.

A triagem através dos prontuários físicos e eletrônicos foi realizada utilizando critérios para inclusão e exclusão dispostos nos itens 5.8 e 5.9. Adicionalmente, as pacientes que foram compatíveis com os critérios do estudo foram reconhecidas e orientadas a conversar individualmente com os pesquisadores, com a finalidade de explicar os objetivos e a importância da pesquisa, o delineamento do estudo, assim como seus riscos e benefícios.

5.8 Câncer de Mama Triplo Negativo não inflamatório em estágios iniciais

Amostras de pacientes com tumores em estágio inicial foi acrescentada ao estudo para investigar se a expressão proteica seria diferencial em relação ao grupo com tumores avançados inflamatório. Esses novos pacientes, de acordo com o estadiamento TNM, eram considerados T1 e T2, com tumores menos avançados, mas também agressivo. Portanto, essa nova coorte consistia em amostras de tumor primário de 23 pacientes com Câncer de Mama Triplo Negativo não inflamatório em estágio inicial (I e II) atendidas no Hospital do Câncer Haroldo Juaçaba do Instituto do Câncer do Ceará (HHJ/ICC), de 2012 a 2020. As pacientes tinham em média 53 anos de idade.

5.9 Riscos da pesquisa

Foram esclarecidos e estabelecidos os possíveis riscos diretamente relacionados ao manuseio das lâminas de Hematoxilina & Eosina (H&E) e blocos de parafina, tais como o risco de perda do material biológico e a probabilidade de esgotar o bloco com a amostra da paciente foram minimizados com a adoção de métodos seguros e com bastante cuidado, como o mínimo manuseio das amostras entre os departamentos e realização do processamento das amostras como imuno-histoquímica e imunofluorescência apenas no LAFICA.

Com o cuidado de não exaurir o material de tumor da paciente no bloco de parafina, os cortes foram feitos obedecendo um limite de tamanho e volume de lâminas. Além disso, o risco de exposição aos reagentes tóxicos e perigosos para realização das técnicas de coloração de lâminas com anticorpos foi reduzido mediante ao uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) e equipamentos apropriados para exaurir os gases. Bem como o armazenamento adequado dos materiais necessários para o estudo.

Portanto, para dar continuidade ética ao estudo, apenas os pesquisadores envolvidos no projeto tiveram acesso aos materiais biológicos e prontuários físicos e eletrônicos das pacientes. Visando otimizar o nivelamento das informações e vazamento de dados dos prontuários, prezando sempre pela confidencialidade e cuidado moral e ético.

5.10 Variáveis analisadas

A coleta de dados foi realizada durante o triênio de 2022-2024, de pacientes que foram atendidas entre janeiro de 2015 a dezembro de 2021, no software de gestão hospitalar disponível no Hospital Haroldo Juaçaba (HHJ), por meio de prontuários eletrônicos e físicos e material cirúrgico para posteriores análises no Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer (LAFICA), localizado no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Foram coletadas informações e variáveis sociodemográficas, clínicas e terapêuticas para posterior análise de associação clínico-patológica com os marcadores em estudo, incluindo:

- a) Variáveis sociodemográficas: sexo (feminino), idade, raça (branca/parda/não informado), Índice de Massa Corporal (IMC) e histórico familiar para câncer.
- b) Variáveis clínicas-patológicas: Tipo histológico, índice de proliferação celular Ki-

67 (< ou igual a 20% / > 20%), acometimento linfonodal, condição metastática, local da metástase, estadiamento clínico TNM ao diagnóstico, subtipo histológico, estadiamento tumoral, PTPRN2, CD68, CD34, resposta patológica, recidiva e óbito.

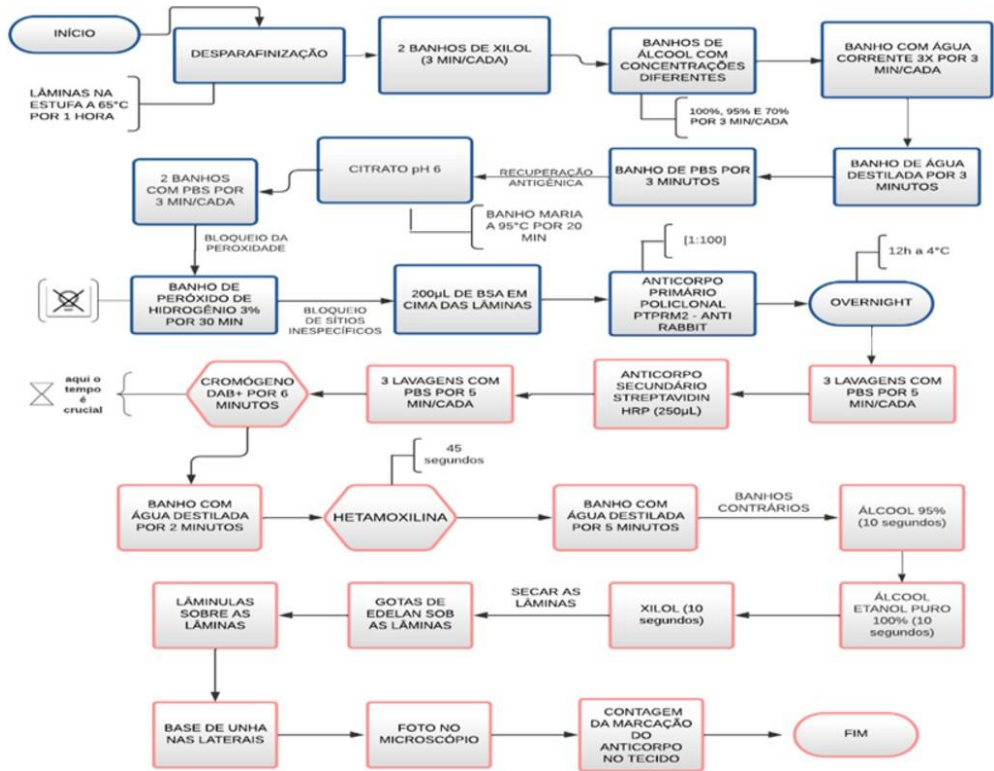
5.11 Técnicas realizadas no LAFICA

5.11.1 Imuno-histoquímica

A coloração por imuno-histoquímica (IHQ) para PTPRN2 (localização citoplasmática) e CD34 (localização membranar e citoplasmática) foi realizada em cortes de tecidos (4 µm) fixados em formalina, incluídos em parafina e montados em lâminas de microscopia silanizadas (tratadas com silano – para melhor fixação do tecido). Para a efetivação do ensaio, as amostras tumorais passaram pelo processo de desparafinização, a iniciar pela estufa (cerca de 1 hora a 60°C), passando pelos banhos de xilol, hidratadas com álcool de forma decrescente (do álcool etílico absoluto (100°) ao 70°) e lavadas em água corrente e solução salina tamponada com fosfato (PBS). Para a recuperação antigênica induzida pelo calor para disponibilizar os epítomos, utilizou-se o tampão citrato de sódio 0,1 M (pH 6,0) a 95°C. A etapa seguinte consistiu no bloqueio da peroxidase endógena incubando por 30 min o peróxido de hidrogênio a 3% (MERCK Emsure 30%). As lâminas foram incubadas por 30 min com albumina de soro bovino a 5% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) para bloqueio dos sítios inespecíficos. Em seguida, todos os cortes foram incubados com o anticorpo primário policlonal coelho IgG anti-PTPRN2 (1:100, Cat# PA5-90035, Invitrogen), ou com o anticorpo primário monoclonal camundongo anti-CD34 (1:100, Cat# 3569 - ICO115, Cell Signaling Technology, Massachusetts, EUA) durante toda a noite a 4°–8°C. No dia seguinte, as amostras foram lavadas 3 vezes com PBS e incubadas com anticorpo secundário, o EnVision + HRP (DAKO, Corporation, Carpinteria, CA, USA) por 30 min. O controle negativo da técnica foi processado concomitantemente como descrito acima, exceto com incubação do anticorpo primário, o qual foi trocado por albumina de soro bovino a 5%. Posteriormente, os tecidos foram sujeitos a uma coloração com o cromógeno DAB+ (DAKO, Ref: K3468) por 6 min para marcação do alvo buscado. No mais, as lâminas foram contra-coradas com hematoxilina de Harris por 1 minuto. Ao final, os cortes foram desidratados com graduações crescentes de álcool etílico e xilol, e as lâminas foram montadas usando lamínula e meio para fixação Entellan (Merck, Ref: 13E0007.08.BG, Synth), facilitando a visualização e a captura de fotomicrografias a partir do microscópio de campo claro acoplado ao computador. A coloração obtida foi analisada de 3 formas, sendo duas delas por meio de

software de imagem (Fiji Image J, National Institutes of Health, Washington, DC, EUA). A **Figura 10** demonstra o passo a passo para a elaboração da IHQ.

Figura 10 – Diagrama da técnica de imuno-histoquímica



Fonte: Autoria própria (2025).
Legenda: Fluxograma representativo de cada passo da imuno-histoquímica. O processo que inicia com a preparação de lâminas, passando pela desparafinização do tecido, hidratação, recuperação antigênica, bloqueios, incubação de anticorpos primários e secundários, finalizando com a montagem e revelação para posterior análise microscópica. Etapas de coloração com hematoxilina e montagem em Entellan (na figura representados com grafia incorreta ‘hetamoxilina’ e ‘edelan’).

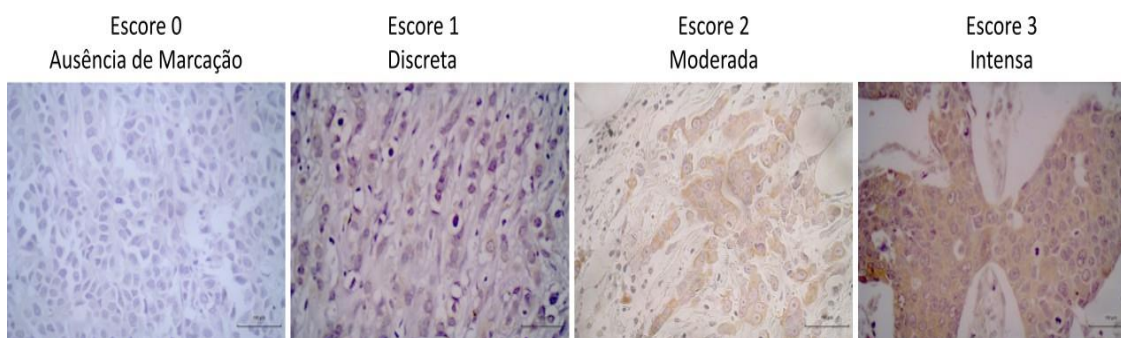
O critério de positividade para o PTPRN2 foi a imunomarcação das células tumorais com o auxílio do olhar do patologista, que seguiu o padrão conforme **Tabela 3** e **Figura 11** abaixo:

Tabela 3 – Intensidade de expressão da marcação por imunohistoquímica

Intensidade de expressão	Graduação
0=	Reação negativa, com ausência de marcação ou marcação em menos de 5% das células
1=	Reação discreta em mais de 5% das células ou reação moderada em menos de 50% das células
2=	Reação moderada em mais de 50% das células ou reação intensa em até 50% das células
3=	Tumores com mais de 50% das células com marcação intensa

Fonte: Febrônio, 2024

Figura 11 – Intensidade de expressão proteica sob perspectiva do patologista



Fonte: Autoria própria (2025).

Legenda: Fotos representativas da intensidade de expressão proteica em amostras de tumor primário de pacientes com carcinoma de mama, determinadas a partir da avaliação histopatológica. As imagens exemplificam os escores de intensidade imputados pelo patologista: escore 0 para ausência de expressão, escore 1 para expressão mais fraca ou discreta, escore 2 para uma expressão mais moderada e escore 3 para tecidos com intensa coloração.

Adicionalmente a esse método de análise, o histoescore ponderado e a deconvolução das imagens obtidas a partir da imuno-histoquímica foram realizados.

5.11.2 Histoescore Ponderado

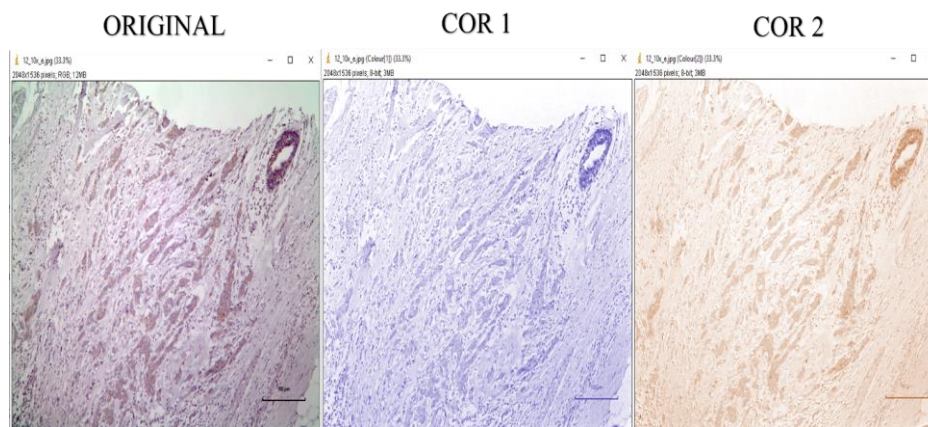
Histoescore Ponderado (HP) é um método de analisar dados e quantificar a imunoeexpressão da proteína de interesse do estudo, o qual está bem estabelecido na literatura (Alexander *et al.*, 2022; Kalavska *et al.*, 2021). Após a finalização da técnica de imuno-histoquímica, o patologista analisa as lâminas e pontua com um escore, como visto acima. Para complementar o dado, ele determina quantas células estavam positivas para marcação da proteína em cada caso, abrindo margens para esse novo método de quantificação. O HP é adquirido pela proporção de escore-porcentagem de células marcadas, sendo determinado pela multiplicação do percentual de células marcadas e seu escore, a seguir: (% de células sem marcação x 0), (% de células discretamente corada x 1), (% de células moderadamente corada x 2) e (% de células intensamente corada x 3).

5.11.3 Deconvolução

A deconvolução por imagem (Crowe; Yue, 2019) é um outro método para investigar a expressão de proteínas através da técnica de imuno-histoquímica que implica o uso de software como o Fiji (ImageJ). Como as imagens são coradas com DAB-cromógeno (cor 2) e hematoxilina (cor 1), a deconvolução leva à produção de três imagens a partir da original (**Figura 12**), entretanto uma é descartada, por se tratar de uma imagem complementar (cor 3). A deconvolução ainda é deficiente em seu protocolo, pois não há um detalhamento para comparar a expressão da proteína buscada, por isso o padrão ouro

continua sendo o olhar de um profissional como patologista. Contudo, existem diferentes formas de análise do resultado através desse método (Shu *et al.*, 2016), e o método escolhido para esse estudo foi através do percentual de área corada.

Figura 12 – Produção de imagens por deconvolução a partir do ImageJ (Fiji)



Fonte: Autoria própria (2024).

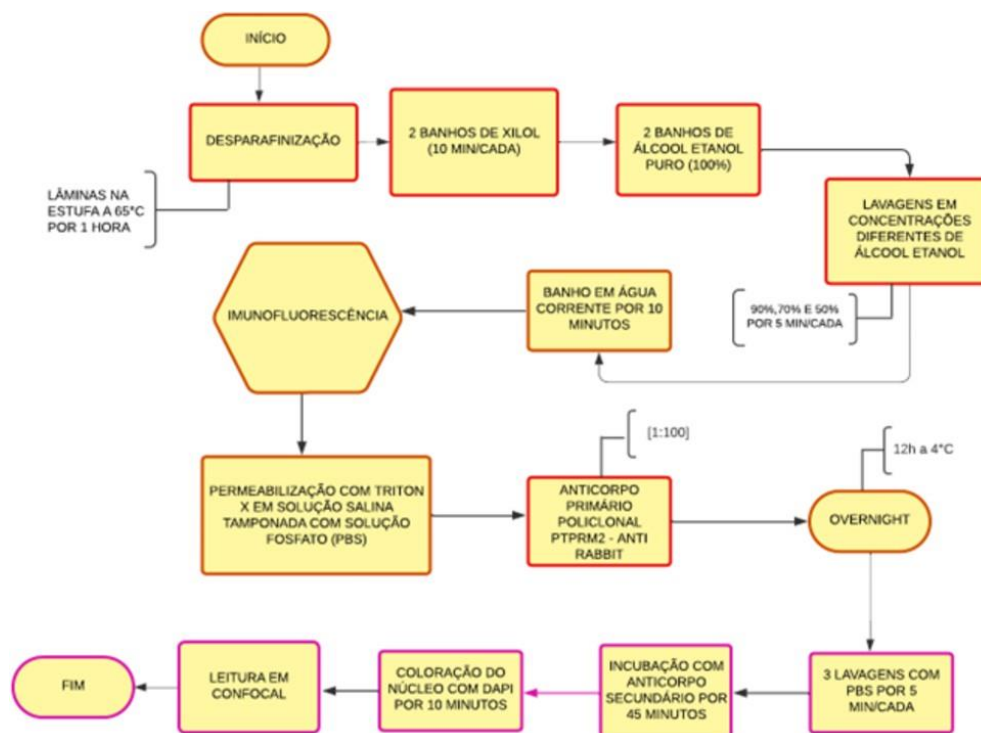
Legenda: Figura representativa da produção de imagens a partir da deconvolução. Como na imuno-histoquímica usamos corantes como DAB-cromógeno (cor 2) para visualização da proteína em estudo e hematoxilina (cor 1) para visualização de núcleos celulares, a deconvolução leva à produção de três imagens a partir da original, entretanto uma é descartada, por se tratar de uma imagem complementar (cor 3 que não aparece na imagem).

5.11.4 Imunofluorescência

O ensaio de imunofluorescência (IF) para PTPRN2 (localização citoplasmática), CD68 (localização nuclear e citoplasmática) e CD34 (localização membranar), foi realizado em cortes de tecidos (4 μ m) fixados em formalina, incluídos em parafina e montados em lâminas de microscopia silanizadas (tratadas com silano – para melhor fixação do tecido). Para a execução da técnica, os cortes tumorais passaram pelo processo de desparafinização, a iniciar pela estufa (cerca de 1 hora a 60°C), passando pelos banhos de xilol, hidratados com graduações decrescentes de álcool e lavados em água corrente e solução salina tamponada com fosfato (PBS). Para a recuperação antigênica induzida pelo calor para disponibilizar os epítomos, utilizou-se o tampão citrato de sódio 0,1 M (pH 6,0) a 95°C. A etapa seguinte consistiu na permeabilização do tecido com Triton X-100 0,1% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). As lâminas foram incubadas com solução contendo glicina 0,3 M (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e albumina de soro bovino a 5% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) para bloqueio dos sítios inespecíficos. Em seguida, todos os cortes foram incubados com o anticorpo primário policlonal coelho IgG anti-PTPRN2 (1:100, Cat# PA5-90035, Invitrogen), ou anticorpo primário monoclonal coelho

anti-CD68 (1:100, Cat# SAB5500070, Sigma-Aldrich, Merck, EUA) ou com o anticorpo primário monoclonal camundongo anti-CD34 (1:100, Cat# 3569 - ICO115, Cell Signaling Technology, Massachusetts, EUA) durante toda a noite a 4°–8°C. No dia seguinte, as amostras foram lavadas 3 vezes com PBS e incubadas com anticorpo secundário cabra anti-camundongo IgG Alexa Fluor 568 (1:400, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) por 1,5 h. Posteriormente, os tecidos foram sujeitos a uma solução DAPI 0,002% (4,6'-diamidino-2-fenilindol)/PBS (Thermo Fisher Scientific) por 30 min para coloração dos núcleos celulares. Ao final, as lâminas foram montadas usando lamínula e o reagente *ProLong Gold Antifade Mountant* (Thermo Fisher Scientific), que facilita a visualização e a captura de fotomicrografias a partir do microscópio de imunofluorescência (Agilent BioTek Cytation) com padronização dos parâmetros, foco e campos. A intensidade de fluorescência foi quantificada por meio do software de imagem FIJI Image J, (National Institutes of Health, Washington, DC, EUA). A **Figura 13** demonstra o passo a passo para a elaboração da IF.

Figura 13 – Diagrama da técnica de imunofluorescência



Fonte: Autoria própria (2025).

Legenda: Fluxograma representativo de cada passo da imunofluorescência. O processo que inicia com a preparação de lâminas, passando pela desparafinização do tecido, hidratação, recuperação antigênica, bloqueios, incubação de anticorpos primários e anticorpos secundários complexados com um fluoróforo, finalizando com a montagem e revelação para posterior análise e quantificação.

5.12 Análise Estatística

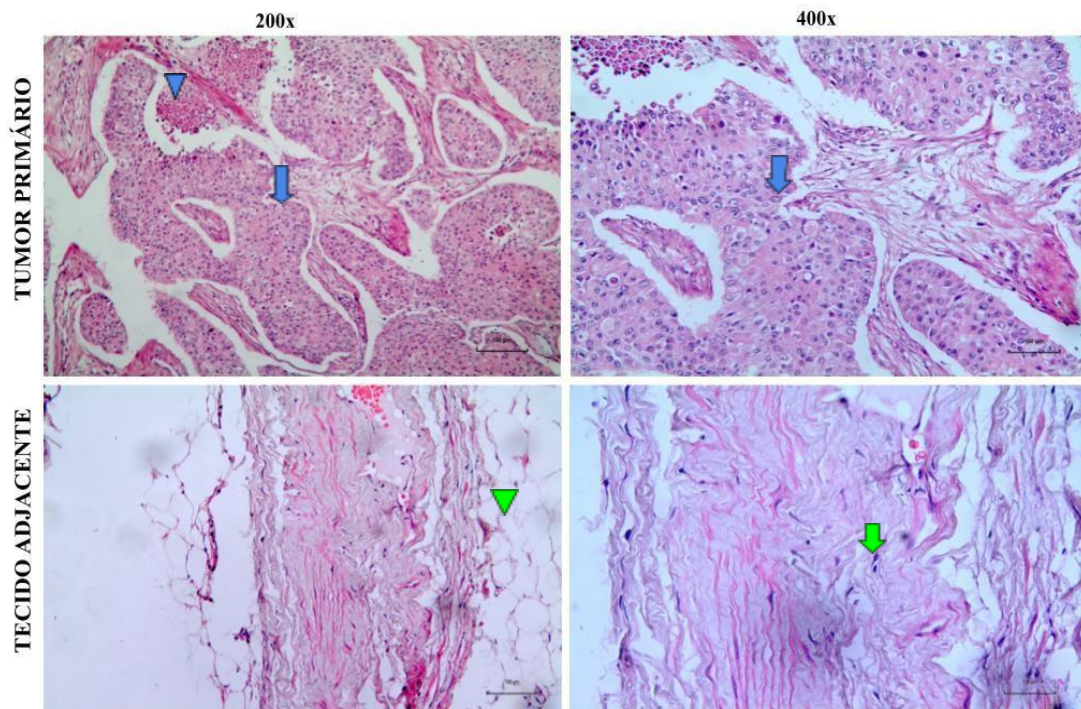
Foi elaborada análise descritiva de todas as variáveis, aplicando frequências absoluta e relativa para variáveis categóricas e média e desvio padrão para variáveis contínuas. As análises de associações foram realizadas empregando os Teste do Qui-quadrado ou Exato de Fisher. O teste de Mann-Whitney também foi empregado para análises não paramétricas ao comparar duas amostras independentes. Para análises de sobrevida foram realizados o teste de Log Rank Mantel x nas curvas de sobrevida de Kaplan Meier. Adicionalmente, foi aplicada a curva ROC que serviu como determinante da alta e baixa expressão proteica. A Correlação de Spearman também foi utilizada para análise da correlação entre as proteínas do estudo. A significância estatística foi aceita quando $P < 0,05$. Todos os dados foram avaliados usando o software GraphPad Prism versão 8.0 e o SPSS Statistics 22.0.

6. RESULTADOS

6.1 Análise histopatológica do Carcinoma Inflamatório da mama

A Figura 14 apresenta fotomicrografias em Hematoxilina e Eosina (H&E) de amostras de blocos de tumor primário com bastante células de carcinoma inflamatório da mama e tecido adjacente ao tumor com ausência de células neoplásicas altamente proliferativas e abundante tecido adiposo visualizadas no aumento de 200× e 400×. Ao visualizar microscopicamente no tumor primário no aumento 200× pode-se perceber blocos sólidos de células epiteliais atípicas (seta azul) com foco de necrose na parte superior esquerda (cabeça de seta azul). No aumento de 400× é possível evidenciar células epiteliais atípicas, com núcleos redondos e amplo citoplasma eosinofílico. No tecido fibroadiposo peritumoral (tecido adjacente) há ausência de carcinoma ductal in situ e nenhum sinal de invasão linfovascular.

Figura 14 – Fotomicrografias em Hematoxilina e Eosina (H&E) de amostras de tumor primário e tecido adjacente de carcinoma inflamatório da mama

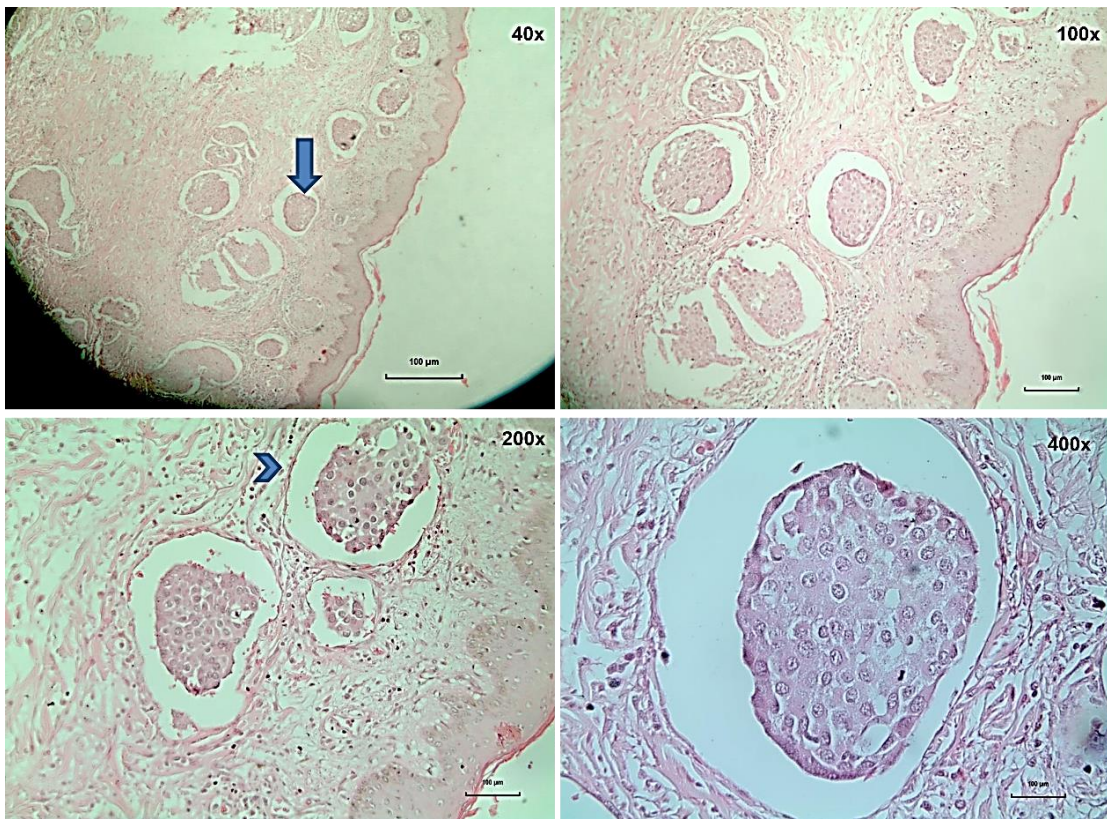


Fonte: Dados da Pesquisa (2025)

Legenda: A figura mostra quatro campos, sendo dois de tumor primário e dois de tecido adjacente em diferentes aumentos. No tecido tumoral, há blocos de células neoplásicas (seta azul) ocupando todo o campo da imagem, com área de necrose (cabeça de seta azul) e tecido fibroso. No tecido adjacente, é possível evidenciar parênquima mamário com células não neoplásicas (seta verde) e abundante tecido adiposo (cabeça de seta verde) no entorno.

Por sua vez, na **figura 15** estão representados bastante êmbolos linfáticos tumorais em diferentes aumentos. Nos aumentos de 40× e 100× observa-se pele com grande quantidade de vasos linfáticos dilatados na derme contendo êmbolos tumorais (seta azul). No aumento de 200× observa-se três vasos linfáticos alargados com êmbolos tumorais na derme superficial com leve infiltrado inflamatório perivascular, sendo dois com maior dilatação no vaso linfático. Na figura 400× evidencia-se detalhadamente um aglomerado morular de células tumorais formando o êmbolo tumoral contendo células periféricas com uma morfologia aplainada que mimetiza o endotélio.

Figura 15 – Fotomicrografias de êmbolos tumorais invadindo vasos linfáticos da derme em diferentes aumentos



Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: As fotografias em diferentes aumentos (40×, 100×, 200× e 400×) mostram vários êmbolos tumorais que foram capazes de invadir os vasos linfáticos e obstruí-los. Cabeça de seta azul apontando para vaso linfático na derme; Seta azul apontando para o êmbolo tumoral dentro do vaso linfático.

6.2 Análise da expressão de PTPRN2 em amostras de tumor primário e tecido adjacente não tumoral no carcinoma inflamatório da mama

A primeira forma de análise da expressão de PTPRN2 foi realizada pela técnica de imunohistoquímica (IHQ) e as análises foram de diversas maneiras: 1) Seguindo a literatura, foi através de análise de escores de intensidade de imunomarcção do PTPRN2 realizado pelo patologista, sendo esta uma análise às cegas, ou seja, sem conhecimento prévio sobre os códigos das amostras e os parâmetros clínico-patológicos analisados. Com isso, foi possível destacar uma forte positividade citoplasmática nas células tumorais, com diferentes intensidades nos tecidos. 2) Análise da expressão pelo Histoescor Ponderado e 3) Quantificação da expressão do PTPRN2 pelo *deconvolution* usando o programa Image J.

Na **Tabela 4** descrita abaixo, encontra-se a análise descritiva das amostras de tecido primário e tecido adjacente divididas em escores [0-3]. É propício observar a predominância da imunomarcção de PTPRN2 nas células tumorais no tumor primário, visto que 44,45% das amostras obtiveram escore 1, com uma coloração mais discreta, enquanto 22,25% alcançaram escore 2 e 33,33% das amostras foram consideradas com ausência de imunomarcção. Em contrapartida, nas amostras de tecido adjacente houve uma predominância de escore 0 com 81,82% do total de amostras, ao passo que apenas 1 amostra exibiu marcação com escore 1 (discreta) e outra com escore 2 (moderada). A média para o tecido primário foi $0,88 \pm 0,75$, enquanto para o tecido adjacente a média $0,27 \pm 0,06$.

Tabela 4 – Escores da imunoexpressão de PTPRN2 analisada pelo patologista

ESCORES					
CIM	N	0	1	2	3
Tecido Primário	18 (62,07%)	6 (33,33%)	8 (44,45%)	4 (22,22%)	0 (0%)
Tecido Adjacente	11 (37,93%)	9 (81,82%)	1 (9,09%)	1 (9,09%)	0 (0%)
Total	29 (100%)				

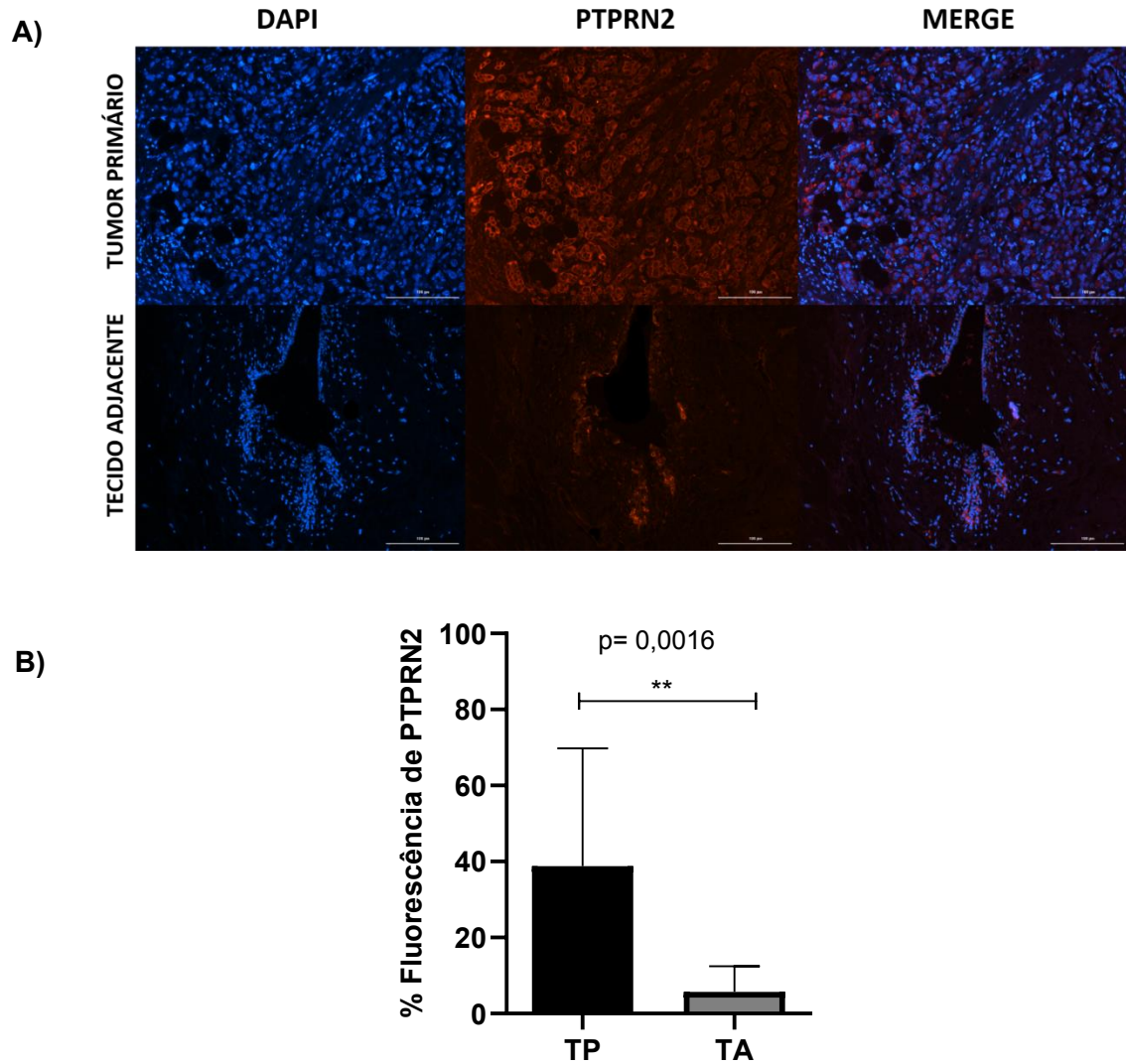
Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: Tabela com distribuição de escores determinados pela análise do patologista entre as amostras de tumor primário e tecido adjacente do grupo CIM. Nela é possível constatar que a tendência da proteína PTPRN2 no tecido adjacente é não se expressar, visto abundante exemplares com ausência de coloração, ao passo que no tumor primário há mais casos expressando diferentes intensidades do marcador. CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama).

Desse modo, o gráfico da **Figura 16A** que foi baseado nos escores determinados pelo patologista apresenta uma diferença significativa de positividade para imunomarcção positiva nas células do Tumor Primário (TP) em relação ao Tecido Adjacente (TA) com $*p=0,0277$. Enquanto na **Figura 16B**, o histoescore foi utilizado como ferramenta para evidenciar de forma semi-quantitativa o resultado da análise, e nela foi possível encontrar um perfil de expressão com significância ($*p=0,0157$) para o TP vs. TA ($55,4\pm53,8$ vs. $12,7\pm31,3$). Assim, para verificar se o padrão de análise permaneceria em relação às amostras, foi realizada a deconvolução, cuja análise semi-quantitativa permite obter o percentual da área marcada na imagem. Com isso, a **Figura 16C** apresenta a diferença de quantificação da área celular por deconvolução expressando uma diferença significativa de PTPRN2 nas amostras de TP em relação ao TA ($*p=0,0012$). O percentual mínimo da área de coloração de PTPRN2 por deconvolução para o tumor foi 2,33% e o máximo de 187,4%, com média $89,6\pm50,9$, enquanto para o tecido adjacente a mínima foi de 0,00% e a máxima foi de 66,8%, com média $32,5\pm25,9$. Tais resultados indicam que a PTPRN2 está mais expressa nas células tumorais.

Para observar se na análise da expressão de PTPRN2 por imunofluorescência entre amostras de TP e TA (**Figura 17A**), essa mesma diferença de expressão seria detectada, o gráfico (**Figura 17B**) foi gerado, e também possível estabelecer perfil com diferença significativa entre os dois tipos de amostra através desse método ($*p=0,0016$). O campo escolhido para as fotomicrografias representa o padrão de expressão de PTPRN2 para cada tipo de amostra, com diferença quantitativa da área fluorescente. O percentual mínimo da área fluorescente de PTPRN2 para o tumor foi 1,14% e o máximo foi de 101,2%, com média $38,8\pm30,9$, enquanto para o tecido adjacente a mínima foi de 0,01% e o máximo foi de 19,8%, com média $5,7\pm6,7$.

Figura 17 – Quantificação da expressão de PTPRN2 por imunofluorescência



Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: A figura A mostra a área fluorescente de tumor primário (acima) e tecido adjacente (abaixo), enquanto a figura B representa a distribuição do percentual da área fluorescentes do marcador de PTPRN2 nos 17 pacientes do grupo CIM. O percentual mínimo da área fluorescente de PTPRN2 para o tumor foi 1,14% e o máximo foi de 101,2%, com média $38,8 \pm 30,9$, enquanto para o tecido adjacente a mínima foi de 0,01% e o máximo foi de 19,8%, com média $5,7 \pm 6,7$. DAPI é um corante de núcleos celulares, MERGE é a sobreposição das imagens com DAPI e a proteína do estudo. CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); TP (Tumor Primário); TA (Tecido Adjacente). **Teste de Mann-Whitney. Valor barra de escala: 100 μm . n: 18 amostras de tumor primário e 11 de tecido adjacente.

6.3 Dados demográficos, clínico-patológico de pacientes com Carcinoma Inflamatório e não inflamatório da mama

Na pesquisa de imunoexpressão intergrupar, os resultados foram obtidos do estudo com uma amostra de 34 pacientes, sendo 18 do grupo com Carcinoma Inflamatório da Mama e 16 do grupo com Carcinoma Não Inflamatório da Mama ambos em Estágios III ou IV no período de janeiro de 2015 e dezembro de 2021. Todas as pacientes recrutadas para o estudo foram do sexo feminino.

De acordo com a **Tabela 5**, as pacientes tinham em média 57 anos de idade e a mediana de 55 anos, variando entre 36 e 91 anos. À proporção em que foram agrupadas por faixa etária e por grupo a qual pertenciam, percebeu-se que 16,6% das pacientes do grupo CIM tinham menos de 45 anos, enquanto 83,4% das pacientes tinham idade superior a 45 anos. No grupo CANI, a diferença foi um pouco diferente quanto a distribuição do grupo CIM entre as faixas etárias, sendo 37,5% das pacientes com menos de 45 anos, ao passo que 62,5% das pacientes tinham mais de 45 anos de idade. Conforme a raça, 15 pacientes do grupo CIM eram autodeclaradas pardas (83%) e apenas 3 mulheres eram brancas (17%). No grupo CANI esse perfil foi bem parecido, com 14 pacientes autodeclaradas pardas (87,5%) e 2 brancas (12,5%).

No que se refere ao histórico familiar de câncer, 8 pacientes do grupo CIM (45%) declararam algum tipo de câncer em parentes próximos, sendo 5 pacientes (62,5%) dentre as 8, que reportaram câncer de mama ou de ovário nesses mesmos parentes, enquanto 7 pacientes (39%) negaram qualquer neoplasia no núcleo familiar e 3 (16%) não conseguiram informar. Sobretudo, foi observado o mesmo padrão familiar no grupo CANI, uma vez que 8 pacientes (50%) declararam positividade para histórico familiar de câncer, no entanto, apenas 2 apresentaram nódulo na mama ou no ovário. O mesmo total de 7 pacientes (44%) negaram histórico para câncer e 1 apenas (6%) não apresentou registro para histórico.

A respeito do Índice de Massa Corpórea (IMC), o padrão foi semelhante nos grupos, pois em ambos, 5 pacientes apresentaram uma massa corporal eutrófica ($<24,9$), sendo 28% para CIM e 31% para CANI. Nos padrões de sobrepeso e obesidade ($IMC >24,9$), o grupo CIM apresentou 13 pacientes (72%), enquanto o CANI constatou 11 pacientes (69%).

Com base no estadiamento clínico ao diagnóstico, 56% das pacientes do grupo de carcinoma inflamatório apresentaram estágio IV ao passo que 44% apresentaram

estágio III. Já no grupo de carcinoma não inflamatório 44% das pacientes eram estágio IV, enquanto 56% era estágio III. O que era de se esperar, dado nosso critério de seleção e a própria característica de pacientes com carcinoma inflamatório apresentando estágio mais avançado da doença.

No estadiamento linfonodal, dividido entre N0 e N3 com base no número de linfonodos comprometidos, foi constatado envolvimento clínico dos linfonodos bem heterogêneo em ambos os grupos, enquanto no grupo CIM 50% das pacientes foram N2, no grupo CANI 50% das pacientes foram N1. Além disso, dentre as nossas amostras, a avaliação da expressão dos receptores hormonais por imuno-histoquímica mostrou que 77% (14) das pacientes do grupo CIM positivaram para ambos receptores hormonais RE e RP ao mesmo tempo em que negativaram para HER2, enquanto apenas 1 paciente (6%) foi positiva tanto para RP e RE e status HER2+, 1 paciente (6%) com receptores hormonais negativos e HER2 positivo e 2 pacientes (11%) com amostra triplo negativo, ou seja, com ausência de receptores hormonais e HER2. No grupo CANI, 56% (9) das pacientes foram positivas para RE e RP e negativas para HER2, enquanto 12,5% (2) pacientes foram positivas tanto para RP e RE e status HER2+, 12,5% (2) pacientes com HER2 amplificado e 18,75% (3) pacientes com amostras triplo negativo.

Referente ao índice de proliferação celular Ki-67, o padrão se repetiu ao observar que mais de 50% das pacientes entre os dois grupos possuíam um Ki-67 acima ou igual a 20%, sendo 78% para o CIM referente a 14 pacientes e 56% para o CANI referente a 9 pacientes, já para o Ki-67 menor que 20%, foram apenas 4 pacientes no CIM (22%) e apenas 7 pacientes (44%) no CANI.

No que tange a metástase a distância, muitos pacientes entre os dois grupos metastatizam após o diagnóstico. No CIM, 13 pacientes apresentaram metástase à distância (72%), sendo dentro desse número, 77% ao diagnóstico e 23% durante o follow-up, enquanto apenas 5 pacientes não foram acometidas (28%). No CANI, a amostra ficou bem dividida, com 8 pacientes apresentando metástase a distância (50%), sendo dentro desse número, 75% ao diagnóstico e 25% durante o follow-up, na outra metade das pacientes não foram observadas metástase (50%).

Já com referência ao tratamento neoadjuvante, em ambos os grupos as pacientes foram tratadas baseada no regime quimioterápico AC-T, totalizando 28 pacientes, sendo 78% do grupo CIM e 87,5% do grupo CANI, enquanto outros tipos de regime terapêutico foram menos prescritos. No carcinoma não inflamatório, 17%

das pacientes não receberam quimioterapia neoadjuvante, uma devido à idade mais avançada (91 anos) e as outras duas não tinham registro no sistema.

O *status* atual das pacientes ou percentual de sobrevida foi estratificado em vivo e óbito. Houve uma prevalência de óbitos com mais de 60% no Carcinoma inflamatório da mama, enquanto 33% continua com o tratamento no mesmo centro de referência em Oncologia. Por sua vez, o número de óbitos no carcinoma não inflamatório apresentou um percentual semelhante de 56% em relação às pacientes que permanecem vivas, lutando contra a doença, foi de 44%.

Tabela 5 – Características clínico-patológicas das pacientes com Carcinoma Inflamatório da Mama (CIM) e Carcinoma Não Inflamatório da Mama (CANI)

Parâmetros	CIM (n=18) N (%)	CANI (n=16) N (%)	P valor
Idade (anos)	55 (36-79) 56 (36-79)	55 (36-91) 57 (36-91)	
Idade ao diagnóstico (anos)			
≤ 45	3 (16,6)	6 (37,5)	0,889
> 45	15 (83,4)	10 (62,5)	
Raça			
Parda	15 (83)	14 (87,5)	0,999
Branca	3 (17)	2 (12,5)	
Histórico Familiar de Câncer			
Sim	8 (45)	8 (50)	0,815
Câncer de mama ou de ovário	5 (62,5)	2 (25)	
Não	7 (39)	7 (44)	
Não informado	3 (16)	1 (6)	
Índice de Massa Corpórea (Kg/m²)			
Eutrófico (≤24,9)	5 (28)	5 (31)	0,860
Sobrepeso/obesidade (25 a 30)	13 (72)	11 (69)	
Estadiamento Clínico			
III	8 (44)	9 (56)	0,732
IV	10 (56)	7 (44)	
Linfonodos			
0	1 (6)	1 (6,25)	0,474
1	5 (28)	8 (50)	
2	9 (50)	4 (25)	
3	3 (16)	3 (18,75)	
Receptores Hormonais (RE ou RP) / status HER2			
+ / +	1 (6)	2 (12,5)	0,606
+ / -	14 (77)	9 (56)	
- / +	1 (6)	2 (12,5)	
TN	2 (11)	3 (19)	
Ki-67			
< 20%	4 (22)	7 (44)	0,274
≥ 20%	14 (78)	9 (56)	
Metástase a Distância			
Não	5 (28)	8 (50)	0,291
Sim	13 (72)	8 (50)	
Síncrona (Estágio IV)	10 (77)	6 (75)	
Metacrônica	3 (23)	2 (25)	
Esquema Terapêutico			
Neoadjuvante			
AC	2 (11)	1 (6,25)	0,304
AC-T	14 (78)	14 (87,5)	
Outro	2 (11)	1 (6,25)	
Não	0 (0)	3 (18,75)	
Status de sobrevivência			
Vivo	7 (33)	7 (44)	0,999
Óbito	11 (67)	9 (56)	

Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: Avaliação dos parâmetros clínicos e patológicos de 34 pacientes, sendo 18 com Carcinoma Inflamatório da Mama e 16 com Câncer Não Inflamatório da Mama em Estágios III e IV. RE: Receptor

de Estrógeno; RP: Receptor de Progesterona; HER2: Fator de Crescimento Epidérmico Humano 2; AC: Antraciclina; AC-T: Antraciclina + Taxanos.

Na análise dos tumores primários dos grupos CIM e CANI, a análise continuou cega sem conhecimento prévio sobre os grupos. Com isso, foi possível destacar diferentes intensidades nos tecidos e entre os grupos estudados na **Tabela 6**. No entanto, ao observar o grupo CANI, percebe-se que suas amostras foram mais heterogêneas quanto a imunexpressão da proteína PTPRN2, pois 5 amostras (33,33%) obtiveram escore 1, 4 amostras (26,67%) ganharam escore 2 e 2 amostras (13,33%) obtiveram escore 3, com maior intensidade de marcação. Enquanto apenas 4 amostras (26,67%) tiveram ausência de expressão. No grupo CIM, não foi possível encontrar nenhum tecido com intensa marcação em mais de 50% das células, portanto, não foi observado escore 3. Além disso, mais de 33% das amostras tiveram ausência de expressão proteica, superando o grupo CANI. No entanto, ainda assim o padrão de expressão foi bem similar entre os grupos.

Tabela 6 – Escores da imunexpressão de PTPRN2 analisada pelo patologista

ESCORES					
CIM	N	0	1	2	3
Tecido Primário	18 (100%)	6 (33,33%)	8 (44,45%)	4 (22,22%)	0 (0%)
CANI	N	0	1	2	3
Tecido Primário	15 (100%)	4 (26,67%)	5 (33,33%)	4 (26,67%)	2 (13,33%)

Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama).

Tabela com distribuição de escores entre as amostras de tumor primário entre os grupos CIM e CANI.

Quanto à imunomarcagem proteica no tumor primário, as amostras foram classificadas como ausência (escore 0) ou presença de marcação (escores 1-3). No entanto, conforme apresentado na **Tabela 7** não foi possível estabelecer uma diferença com significância estatística entre os grupos CIM vs CANI ($p > 0,05$).

Tabela 7 - Imunomarcção de amostras de Tumor Primário para PTPRN2 no Carcinoma Inflamatório e Carcinoma Não Inflamatório

ESCORES				
GRUPO	N	0	1 a 3	P-valor
CIM	18 (54,54%)	6 (33,33%)	12 (66,67%)	0,722*
CANI	15 (45,46%)	4 (26,67%)	11 (73,33%)	
Total	33 (100%)			

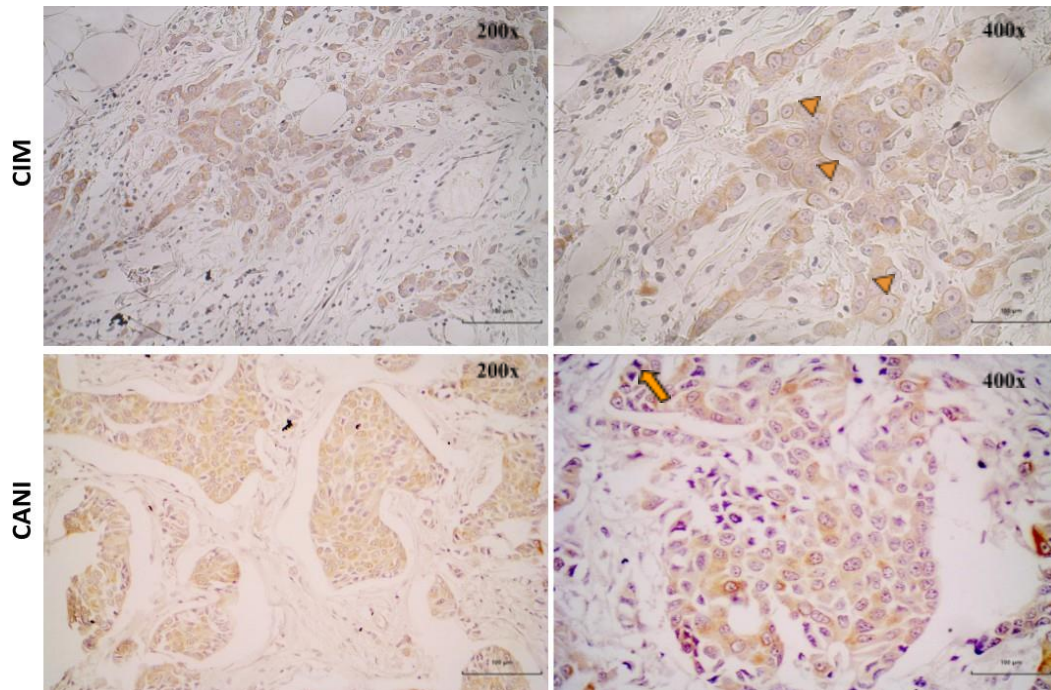
Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama).

*Teste qui-quadrado

Na Figura 18 está representada uma marcação moderada (escore 2) nas amostras de tumores entre os dois grupos. Foram selecionadas as imagens que melhor representaram os achados obtidos por meio das análises realizadas. Apenas amostras de CANI obtiveram escore 3 com alta intensidade de PTPRN2 em mais de 50% das células, enquanto no grupo CIM a marcação intensa ficou nivelada a menos de 50% das células neoplásicas, não alcançando o escore 3. No aumento de 400× da fotografia do grupo CIM é possível evidenciar células cancerígenas enormes com abundante citoplasma, até maiores que as células neoplásicas do grupo não inflamatório, além de grandes e pleomórficos núcleos. Essas Células Cancerígenas Gigantes Poliploides (PGCC) observadas podem ter múltiplos núcleos ou núcleo bem grande (cabeças de setas laranja). Na imagem de aumento de 400× do grupo CANI é possível observar desde células entrando em mitose (seta laranja) a células com hipercromasia (seta azul), ou seja, com hiper coloração de núcleos, se diferenciando de outras células na mesma lâmina. Esses achados são um indicativo que estamos diante de células tumorais, uma vez que células neoplásicas tendem apresentar um perfil de expressão genética diferente, com duplicação anormal do seu material genético, se tornando poliploides.

Figura 18 – Expressão discreta (escore 2) da proteína PTPRN2 em amostras de Carcinoma Inflamatório e Carcinoma Não Inflamatório da Mama



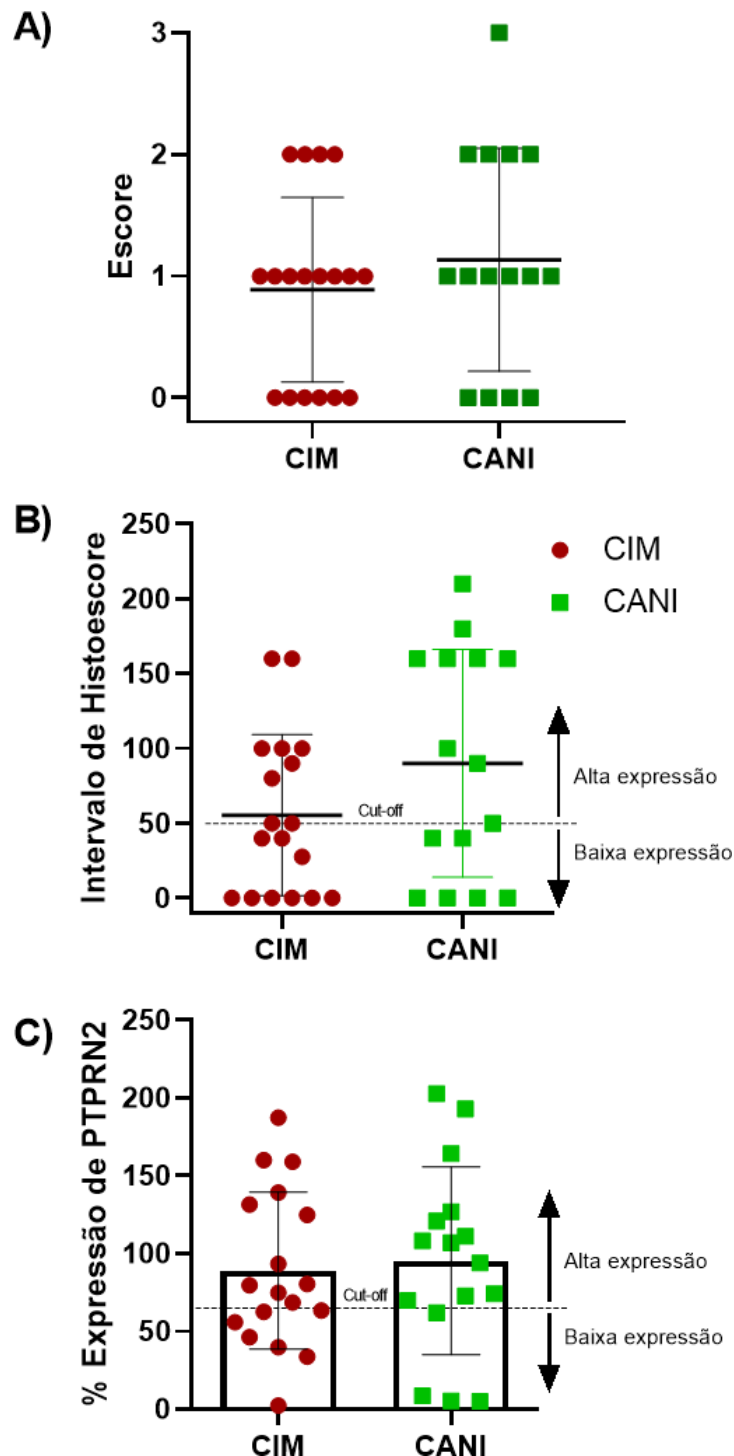
Fonte: Dados da pesquisa (2025)

Legenda: CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama). A figura mostra quatro campos, sendo dois de tumor primário do grupo CIM (acima) e dois de tumor primário do grupo CANI (abaixo) em diferentes aumentos (200× e 400×). Em ambos os tecidos tumorais há blocos de células neoplásicas expressando PTPRN2 no citoplasma com coloração discreta (escore 2). Na fotomicrografia há cabeças de seta laranja apontando para células poliploides no carcinoma inflamatório e há seta laranja apontando para células em mitose e seta azul no carcinoma não inflamatório.

6.4 Escore, Histoescor e Deconvolução para expressão de PTPRN2 na imuno-histoquímica

Na Figura 19 estão representados três gráficos entre amostras de tumor primário intergrupar, sendo de Escore (Figura 19A), de Histoescor (Figura 19B) e de Deconvolução (Figura 19C), respectivamente. No gráfico A observa-se que a expressão está bem similar entre o grupo CIM e CANI, com amostras semelhantemente distribuídas entre os escores e sem diferença estatística, como supracitado ($p>0,05$). A partir do histoescor, no gráfico B, estabeleceu-se uma faixa de pontuação de 0 a 210 entre as amostras de tumor primário do estudo, mas ainda assim não foi possível estabelecer diferença significativa entre as pontuações dos grupos ($p>0,05$), pois as amostras que manifestaram alta expressão foram bem parecidas em números tanto no grupo de pacientes com carcinoma inflamatório e não inflamatório. No gráfico C por deconvolução, para a semi-quantificação da área celular marcada, possibilitando determinação da porcentagem de coloração de proteína pela imunohistoquímica. O campo com maior aumento (200×) foi escolhido para realizar a fotomicrografia para posterior quantificação. O padrão de alta expressão foi homogêneo entre os grupos, com máximo e mínimo (mín: 2,33 máx:187,4; mín: 5,13 máx: 202,8) para CIM e CANI, respectivamente, por isso não foi possível demonstrar diferença entre eles (p -valor: 0,645). No mais, as amostras que obtiveram maiores pontuações em ambos os grupos, ou seja, elevada expressão de PTPRN2 pertencem a tumores de pacientes com subtipo molecular luminal A ou B ou HER2 amplificado.

Figura 19 – Avaliação das amostras de Tumor Primário a partir do Escore, Histoescor e porcentagem de coloração por Deconvolução para PTPRN2 no Carcinoma Inflamatório e Carcinoma Não Inflamatório



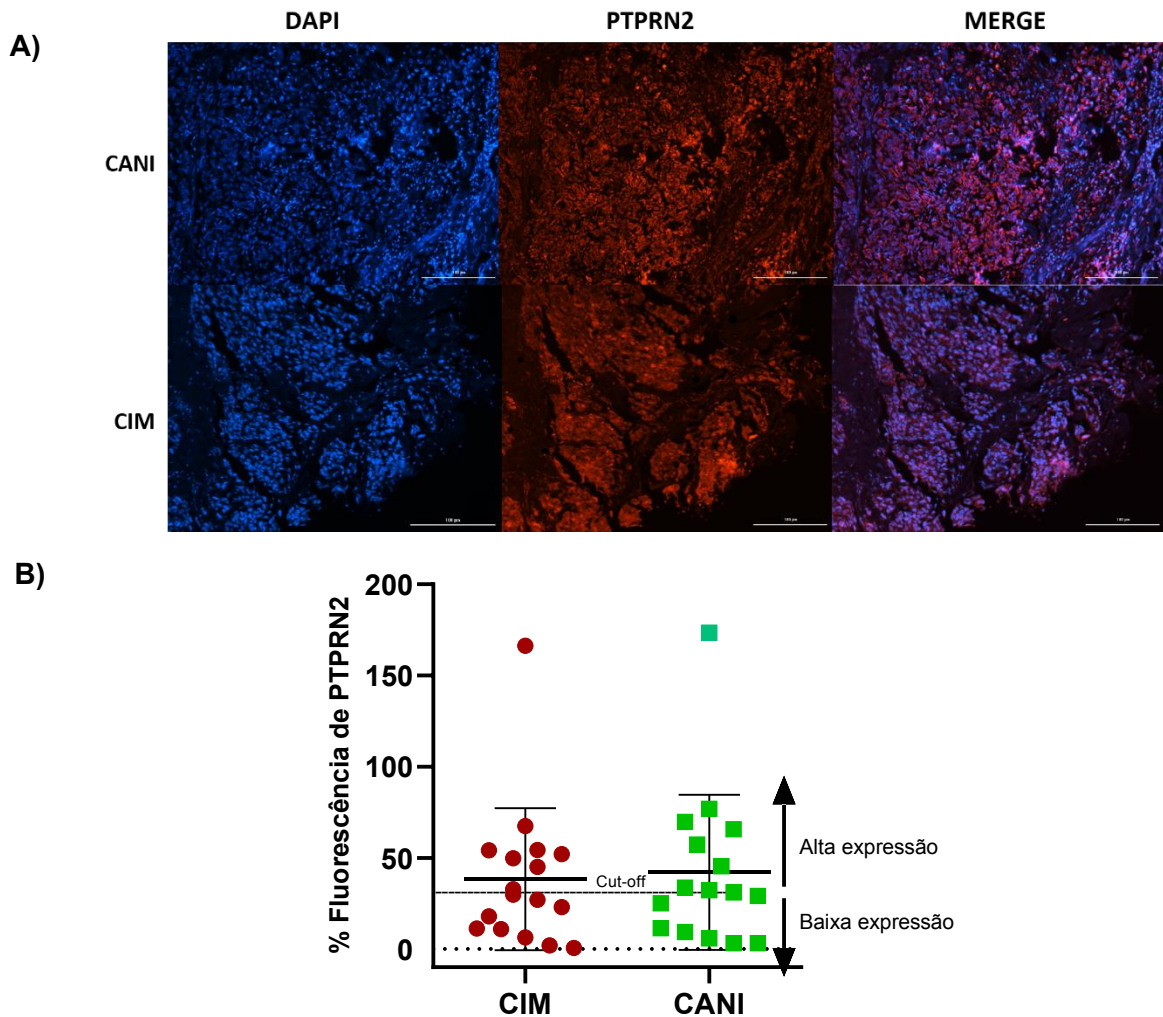
Fonte: Dados da Pesquisa (2025)

Legenda: CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama). A figura mostra três gráficos analisados por diferentes métodos entre a expressão de PTPRN2 em amostras de tumor primário do grupo CIM e do grupo CANI. Na **figura A**, análise da expressão por imunohistoquímica avaliada por escores avaliados pelo patologista, em que observa-se apenas duas amostras do grupo CANI com escore 3, enquanto na **figura B** há a quantificação da expressão pelo Histo-escore (**B**) e análise da quantificação pelo método da deconvolução (**C**). Nenhum grupo teve expressão significativamente maior em relação ao outro.

6.5 Avaliação da expressão de PTPRN2 em tumores primários por imunofluorescência

Já na Figura **20A** está a representação em fotomicrografia da expressão de PTPRN2 em amostras de tumor primário para os carcinomas inflamatórios e não inflamatórios da mama. A avaliação de PTPRN2 pela técnica de imunofluorescência seguiu o mesmo padrão de coloração quanto a expressão não diferencial entre as amostras de tumor primário nos grupos estudados. A **Figura 20B** traz um gráfico representando a expressão de PTPRN2 sem variação significativa entre os grupos ($p>0,05$). O percentual mínimo da área fluorescente de PTPRN2 para o grupo CIM foi 0,59% e o máximo foi de 166,4%, para o grupo CANI foi de 3,16% e o máximo foi de 173,4. A média de expressão intergrupar foi bem similar ($38,3\pm 38,9$ para CIM; $42,0\pm 42,5$ para CANI). Contudo, evidenciamos altos expressores de PTPRN2 pertencentes às amostras com HER2 amplificado para CIM e luminal para CANI, consolidando os achados nos outros métodos de análise supracitados.

Figura 20 – Expressão de PTPRN2 de acordo com a imunofluorescência em Carcinoma Inflamatório e Carcinoma Não Inflamatório da Mama em amostras de Tumor Primário



Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama). DAPI é um corante de núcleos celulares, MERGE é a sobreposição das imagens com DAPI e a proteína do estudo. A figura A mostra a área fluorescente do grupo CIM e CANI, enquanto a figura B mostra a distribuição do percentual da área fluorescente do marcador de PTPRN2 nos 33 pacientes. Cada ponto representa o percentual de cada paciente. A linha pontilhada do meio indica a mediana (cut-off) das amostras analisadas. a) O percentual mínimo da área fluorescente de PTPRN2 para o grupo CIM foi 0,59% e o máximo foi de 166,4%, para o grupo CANI foi de 3,16% e o máximo foi de 173,4.

Para classificar as amostras de tumor primário em alta e baixa expressão através do Histoescor, o *cut-off* foi estabelecido a partir da mediana entre os histoescor, sendo determinado em torno de 50. Portanto, todas as amostras de tumor primário que fossem menores ou iguais a 50 foram consideradas com baixa expressão (*Low*) e amostras acima de 50 consideradas com alta (*High*) expressão (**Tabela 8**). No grupo CIM, mais amostras (61,11%) foram classificadas *Low* (do Inglês, baixo), enquanto no grupo CANI mais da metade (53,33%) foram classificadas em *High* (do Inglês, alto). Mas não foi possível ser observada diferença significativa entre os mesmos ($p>0,05$). Além disso, na **Tabela 9** contém as amostras em ambos os grupos classificadas em baixa e alta expressão de PTPRN2 correlacionadas com características clínico-patológicas. Entretanto, não foi possível estabelecer nenhum perfil de relação entre alta e baixa expressão de PTPRN2 entre as variáveis estudadas.

Tabela 8 – Intervalo do Histoescor da imunomarcção para PTPRN2 no Carcinoma Inflamatório e Carcinoma Não Inflamatório somente amostras de Tumor Primário

Histoescor	Classificação de expressão	CIM	CANI	p-valor
0-50	LOW	11 (61,11%)	7 (46,67%)	0,493
51-210	HIGH	7 (38,89%)	8 (53,33%)	
Total		18 (100%)	15 (100%)	

Fonte: Dados da Pesquisa (2025).
Legenda: CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama).
*Teste qui-quadrado

Tabela 9 – Associação da alta e baixa expressão por histoescore para PTPRN2 no Carcinoma Inflamatório e Não Inflamatório da Mama com parâmetros clínico-patológicos

Variáveis	Expressão de PTPRN2 CIM			p-Valor	Expressão de PTPRN2 CANI			p-Valor
	Total 18 (100%)	High 7 (38,89%)	Low 11 (61,11%)		Total 15 (100%)	High 8 (53,33%)	Low 7 (46,67%)	
Idade (anos)								
≤45	4 (22,2%)	2 (28,6%)	2 (18%)	0,9999	6 (40%)	2 (25%)	4 (57%)	0,3147
> 45	14 (77,8%)	5 (71,4%)	9 (82%)		9 (60%)	6 (75%)	3 (43%)	
Raça								
Parda	15 (83,3%)	6 (85,7%)	9 (82%)	0,9999	13 (86,66%)	8 (100%)	5 (71%)	0,2000
Branca	3 (16,7%)	1 (14,3%)	2 (18%)		2 (13,34%)	0 (0%)	2 (29%)	
Histórico Familiar								
Sim	9 (50%)	4 (57,1%)	5 (44%)	0,6199	7 (46,7%)	3 (42,8%)	4 (57,2%)	0,5528
Não	8 (44,4%)	2 (28,6%)	6 (85,7%)		7 (46,7%)	5 (71,4%)	2 (28,6%)	
Não informado	1 (5,6%)	1 (14,3%)	0 (0%)		1 (6,6%)	0 (0%)	1 (100%)	
Estágio								
III	12 (66,7%)	4 (57,1%)	8 (73%)	0,6267	8 (53,33%)	5 (62,5%)	3 (43%)	0,6193
IV	6 (33,3%)	3 (42,9%)	3 (27%)		7 (46,67%)	3 (37,5%)	4 (57%)	
Estadiamento N								
N0	2 (11,1%)	2 (28,6%)	0 (0%)	-	1 (6,67%)	1 (12,5%)	0 (0%)	-
N1	3 (16,7%)	0 (0%)	3 (27%)		8 (53,33%)	5 (62,5%)	3 (43%)	
N2	9 (50%)	4 (57,1%)	5 (46%)		3 (20%)	2 (25%)	1 (14%)	
N3	4 (22,2%)	1 (14,3%)	3 (27%)		3 (20%)	0 (0%)	3 (43%)	
Metástase								
M0	12 (66,7%)	4 (57,1%)	8 (73%)	0,6267	7 (46,67%)	3 (37,5%)	4 (57%)	0,6193
M1	6 (33,3%)	3 (42,9%)	3 (27%)		8 (53,33%)	5 (62,5%)	3 (43%)	

Índice de proliferação ki67								
<20%	4 (22,2%)	1 (14,3%)	3 (27%)	0,9999	6 (40%)	3 (37,5%)	3 (43%)	0,9999
≥20%	14 (77,8%)	6 (85,7%)	8 (73%)		9 (60%)	5 (62,5%)	4 (57%)	
Quimioterapia Neoadjuvante								
AC-T	14 (77,8%)	4 (57,1%)	10 (91%)	-	13 (86,66%)	8 (100%)	5 (72%)	-
AC	2 (11,1%)	1 (14,3%)	1 (9%)		1 (6,67%)	0 (0%)	1 (14%)	
Outros	2 (11,1%)	2 (28,6%)	0 (0%)		1 (6,67%)	0 (0%)	1 (14%)	
Resposta clínica								
Remissão	6 (33,3%)	1 (14,3%)	5 (45,4%)	0,3043	4 (26,6%)	2 (25%)	2 (28,6%)	0,9999
Óbito	11 (61,1%)	6 (85,7%)	5 (45,4%)		10 (66,7%)	5 (62,5%)	5 (71,4%)	
ND	1 (5,6%)	0 (0%)	1 (9,2%)		1 (6,7%)	1 (12,5%)	0 (0%)	

Ademais, a associação da quantificação por deconvolução da expressão de PTPRN2 com critérios clínico-patológicos das pacientes do estudo também foi realizada. Embora a **Tabela 10** mostre que não foi possível alcançar uma correlação significativa com $p < 0,05$ em nenhuma variável clínico-patológica do grupo CIM em comparação ao grupo CANI, é possível observar uma há uma tendência na associação da expressão da proteína e a ausência de metástase (M0), uma vez que pacientes M0 apresentaram tendência a uma maior expressão de PTPRN2 em comparação a pacientes com metástase (M1), sobretudo no grupo CIM ($105,9 \pm 48,1$ vs. $49,8 \pm 34,0$), ainda que o $p = 0,0646$. Ao observar a expressão proteica de PTPRN2 em tumores com ausência de receptores hormonais, também pode-se sugerir que tumores triplo negativo apresentaram uma tendência a expressão em maior quantidade de PTPRN2, especialmente no grupo CANI ($112,7 \pm 53,9$ vs. $24,2 \pm 32,7$), ainda que o $p = 0,0583$ seja um dado sem significância estatística. Esses achados sugerem possíveis associações que merecem continuar sendo pauta em uma investigação com um grupo amostral mais robusto.

Para avaliarmos a associação da expressão de PTPRN2 por deconvolução como preditor de resposta terapêutica e sua associação com fatores clínico-patológicos, submetemos os dados de imuno-histoquímica à curva ROC. A estimativa do ponto de corte, cut-off, para ser considerado alto expressor foi o valor de 65,0 (**Figura 21**), com uma sensibilidade de 85% e especificidade de 60%.

Tabela 10 – Associação da expressão de PTPRN2 por deconvolução com critérios clínicos-patológicos

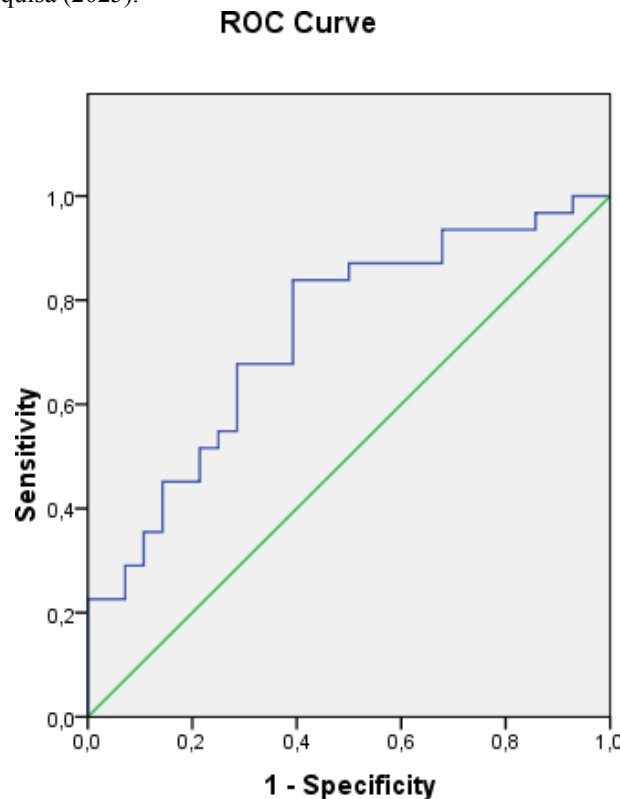
Parâmetro	Expressão de PTPRN2 (%)		Valor de <i>p</i>
	CIM (N=18) Média ± DP	CANI (N=16) Média ± DP	
Idade			
≤45a	69,6±26,0	82,4±75,2	0,9363
> 45a	94,4±54,0	103,4±53,7	
Histórico familiar			
Sim	84,1±62,3	79,9±63,9	0,7097
Não	98,6±34,8	110,5±63,3	
Desconhecido	87,6±65,1	62,0±0	
Obesidade			
Não (IMC <30 Kg/m2)	102,4±52,2	103,9±60,0	0,6476
Sim (IMC ≥ 30 Kg/m2)	58,9±32,4	37,6±45,6	
Estágio LN			
Negativo	79,6±0,0	8,7±0,0	0,3231
Positivo	90,9±54,5	101,2±58,8	
Metástase			
M0	105,9±48,1	105,8±31,8	0,0646
M1	49,8±34,0	85,6±80,5	
Receptor hormonal			
RE-	79,4 ± 16,6	62,9 ± 49,7	0,3576
RE+	93,4 ± 57,1	116,4 ± 61,5	
RP-	76,9 ± 14,5	62,1 ± 42,9	0,2822
RP+	97,0 ± 61,1	123,9 ± 62,8	
HER2			
Negativo	95,6 ± 51,4	95,6 ± 75,3	0,3892
Positivo	47,9 ± 11,3	93,8 ± 22,0	
Ki-67			
Ki67 <20%	79,9 ± 30,1	86,5 ± 47,6	0,9534
Ki67 ≥ 20%	93,3 ± 55,8	102,5 ± 74,0	
TN			
Não	90,9 ± 55,8	112,7 ± 53,9	0,0583
Sim	87,2 ± 7,0	24,2 ± 32,7	

Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama); RE (Receptor de Estrógeno); RP (Receptor de Progesterona); HER2 (Fator de Crescimento Epidérmico Humano 2); LN (Linfonodal); IMC (Índice de Massa Corporal); TN (Triplo Negativo).

Figura 21 – Curva ROC para estimativa de ponto de corte de expressão por imuno-histoquímica como preditor de resposta terapêutica

Fonte: Dados da Pesquisa (2025).



Legenda: A figura representa a curva ROC (Receive Operating Characteristic), que ajuda-nos a entender como os nossos dados se comportam na relação entre sensibilidade e especificidade em diferentes pontos de corte durante a classificação, permitindo-nos encontrar o ponto de corte ideal (*cut-off*) dentro do conjunto de dados. A área sob a curva foi $0,735 \pm 0,065$ (IC95% = 0,607-0,863) $p=0,002$ com cut-off de 65%.

Neste caso, consideraram-se os casos com valor menor ou igual a 65% com baixa expressão de PTPRN2, enquanto os casos com valores maiores de 65% foram tratados como alta expressão. Com isso, a **Tabela 11**, que contém as amostras em ambos os grupos classificadas em baixa e alta expressão de PTPRN2 correlacionadas com características clínico-patológicas foi estabelecida. Diante disso, foi observado que pacientes do grupo CIM com ausência de metástase (M0) apresentaram alta expressão de PTPRN2 (***p-valor: 0,0474**). Entretanto, nenhuma outra diferença estatística foi observada ($p>0,05$). O pequeno N amostral somada a distribuição na classificação das variáveis influenciou na dificuldade de estabelecimento de resultados mais significativos.

Tabela 11 – Associação da alta e baixa expressão da imunomarcacão por deconvolução para PTPRN2 no Carcinoma Inflamatório e Não Inflamatório da Mama com parâmetros clínico-patológicos

Variáveis	Expressão de PTPRN2 CIM			p-Valor	Expressão de PTPRN2 CANI			p-Valor
	Total 18 (100%)	High 11 (61,11%)	Low 7 (38,89%)		Total 16 (100%)	High 12 (75%)	Low 4 (25%)	
Idade (anos)								
≤45	3 (16,67%)	2 (18,2%)	1 (14,3%)	0,6877	7 (43,75%)	4 (33,33%)	3 (75%)	0,2155
> 45	15 (83,33%)	9 (81,8%)	6 (85,7%)		9 (56,25%)	8 (66,67%)	1 (25%)	
Raça								
Parda	15 (83,33%)	10 (90,90%)	5 (71,43%)	0,5282	14 (87,5%)	11 (91,67%)	3 (75%)	0,4500
Branca	3 (16,67%)	1 (9,10%)	2 (28,57%)		2 (12,5%)	1 (8,33%)	1 (25%)	
Histórico Familiar								
Sim	8 (44,44%)	4 (36,36%)	4 (57,14%)	0,3118	8 (50%)	6 (50%)	2 (50%)	-
Não	7 (38,88%)	5 (45,45%)	2 (28,57%)		7 (43,75%)	6 (50%)	1 (25%)	
Não informado	3 (16,66%)	2 (18,18%)	1 (14,3%)		1 (6,25%)	0 (0%)	1 (25%)	
Estágio								
III	12 (66,67%)	7 (63,64%)	5 (71,43%)	0,9999	9 (56,25%)	9 (75%)	0 (0%)	-
IV	6 (33,33%)	4 (36,36%)	2 (28,57%)		7 (43,75%)	3 (25%)	4 (100%)	
Estadiamento N								
N0	1 (5,56%)	1 (9,10%)	0 (0%)	-	1 (6,25%)	0 (0%)	1 (25%)	-
N1	5 (27,78%)	4 (36,36%)	1 (14,28%)		8 (50%)	6 (50%)	2 (50%)	
N2	9 (50%)	5 (45,45%)	4 (57,14%)		4 (25%)	3 (25%)	1 (25%)	
N3	3 (16,66%)	1 (9,10%)	2 (28,57%)		3 (18,75%)	3 (25%)	0 (%)	

Metástase								
M0	13 (72,22%)	10 (90,90%)	3 (42,86%)	<i>0,0474*</i>	8 (50%)	8 (66,67%)	0 (0%)	0,0769
M1	5 (27,78%)	1 (9,10%)	4 (57,14%)		8 (50%)	4 (33,33%)	4 (100%)	
Índice de proliferação ki67								
<20%	4 (22,23%)	2 (18,18%)	2 (28,57%)	<i>0,9999</i>	7 (43,75%)	5 (41,67%)	2 (50%)	<i>0,9999</i>
≥20%	14 (77,77%)	9 (81,82%)	5 (71,43%)		9 (56,25%)	7 (58,33%)	2 (50%)	
Quimioterapia Neoadjuvante								
AC-T	14 (77,76%)	7 (63,64%)	7 (100%)	-	14 (87,5%)	11 (91,67%)	3 (75%)	-
AC	2 (11,12%)	2 (18,18%)	0 (0%)		1 (6,25%)	1 (8,33%)	0 (0%)	
Outros	2 (11,12%)	2 (18,18%)	0 (0%)		1 (6,25%)	0 (0%)	1 (25%)	
Resposta clínica								
Remissão	6 (33,3%)	3 (27,3%)	3 (42,8%)	<i>0,6437</i>	4 (25%)	4 (33,3%)	0 (0%)	0,2280
Óbito	11 (61,1%)	7 (63,6%)	4 (57,2%)		9 (56,2%)	5 (41,7%)	4 (100%)	
NA	1 (5,6%)	1 (9,1%)	0 (%)		3 (18,8%)	3 (25%)	0 (0%)	

No mais, foi realizada a análise de associação entre a expressão por imunofluorescência de PTPRN2 com diferentes parâmetros clínico-patológicos (**Tabela 12**) com amostras de tumor primário dentro dos diferentes grupos do estudo. Dentro da análise, foi possível constatar diferença significativa de expressão da proteína. Seguindo o mesmo raciocínio de amostras com tendência significativa, poderíamos apontar pacientes com positividade para linfonodos comprometidos (LN) com tendência a apresentar uma maior expressão de PTPRN2 no grupo CIM ($40,8 \pm 30,4$ vs. $1,1 \pm 0,0$), mas há um fator limitante ao sugerir isso, pois o grupo de pacientes com negatividade para LN, é composta de apenas 1 paciente.

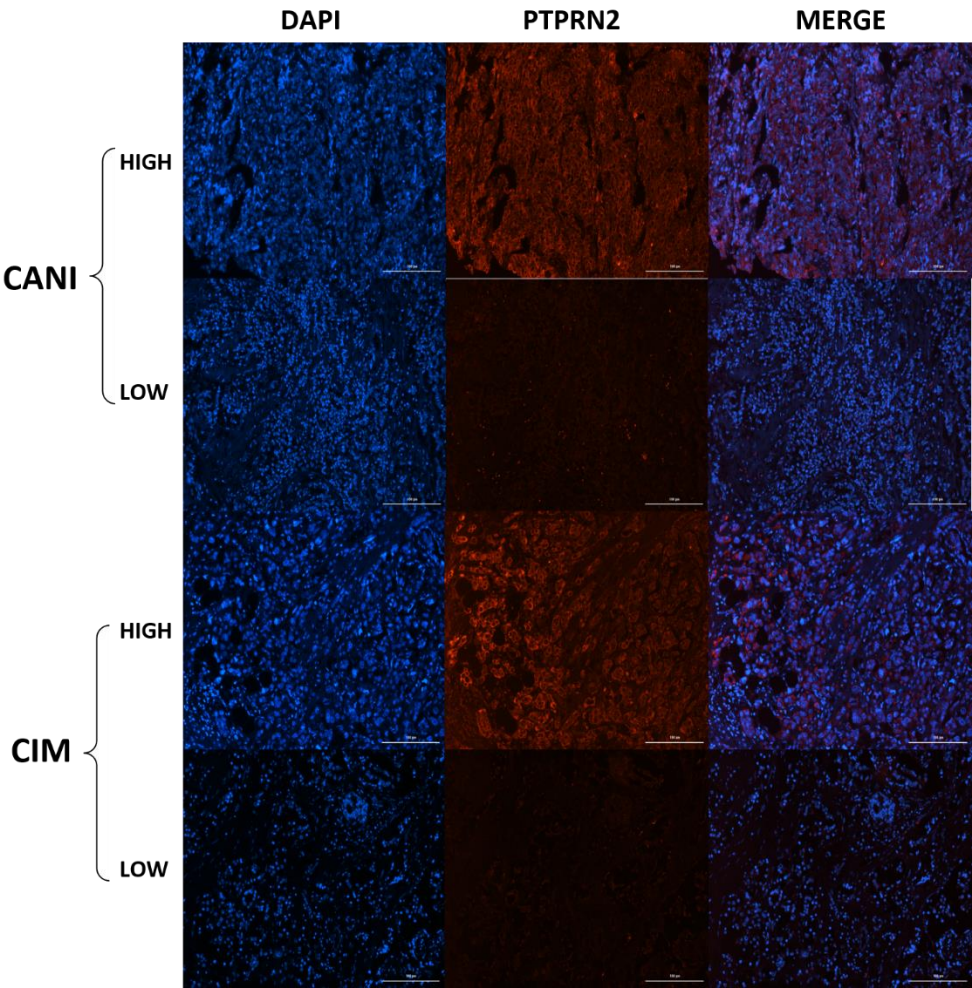
Além disso, a **Figura 22** faz uma representação entre a intensidade de expressão entre os grupos. Assim, para classificar os pacientes em alta (*high*) e (*low*), a mediana de expressão fluorescente entre os tumores foi utilizada, ficando em torno de 31,776. Dentro do grupo CIM, a porcentagem de fluorescência mais baixa foi de 0,59% e a mais alta foi de 166,4%, já no grupo CANI, a menor média porcentagem foi de 3,16% e a maior foi de 253,3%. Logo, a **Tabela 13** foi desenvolvida para verificar a relação da intensidade de expressão de PTPRN2 com alguns critérios clínicos e patológicos. Entretanto, não foi encontrada nenhuma relação positivamente significativa entre as pacientes. Adicionalmente, algumas análises ficaram comprometidas pela quantidade insuficiente de pacientes dentro de uma determinada subclassificação intra-variáveis (-).

Tabela 12 – Imunofluorescência para PTPRN2 no Câncer de Mama com as variações clínico-patológicas

Parâmetro	Expressão de PTPRN2 (%)		Valor de p
	CIM (N=18) Média ± DP	CANI (N=16) Média ± DP	
Idade			
≤45a	41,0 ± 41,5	18,6 ± 15,6	0,2955
> 45a	38,3 ± 29,4	39,2 ± 29,6	
História Familiar			
Sim	45,7 ± 36,5	35,1 ± 35,0	0,7176
Não	34,1 ± 26,6	31,0 ± 18,8	
Desconhecido	29,2 ± 32,3	18,8 ± 0,0	
Obesidade			
Não (IMC <30 Kg/m2)	42,3 ± 33,8	35,1 ± 28,1	0,9117
Sim (IMC ≥ 30 Kg/m2)	28,4 ± 18,8	18,6 ± 19,9	
Estágio LN			
Negativo	1,1 ± 0,0	69,7 ± 0,0	0,0650
Positivo	40,8 ± 30,4	30,2 ± 26,3	
Metástase			
M0	43,7 ± 37,6	23,6 ± 22,2	0,3181
M1	37,6 ± 30,3	39,4 ± 29,4	
Receptor hormonal			
ER-	43,6 ± 51,1	32,8 ± 16,4	0,7877
ER+	37,2 ± 23,3	32,0 ± 34,4	
PR-	39,8 ± 42,4	30,0 ± 18,4	0,7726
PR+	38,2 ± 24,8	34,2 ± 33,5	
HER2			
Negativo	35,8 ± 29,2	32,2 ± 31,0	0,2790
Positivo	65,3 ± 45,9	32,7 ± 19,7	
Ki-67			
Ki67 <20%	50,7 ± 24,0	43,2 ± 35,9	0,9284
Ki67 ≥ 20%	34,8 ± 32,6	25,4 ± 18,5	
TNBC			
Não	41,0 ± 27,1	34,2 ± 28,9	0,9902
Sim	30,1 ± 47,5	23,0 ± 16,3	

Fonte: Dados da Pesquisa (2025).
Legenda: CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama); RE (Receptor de Estrógeno); RP (Receptor de Progesterona); HER2 (Fator de Crescimento Epidérmico Humano 2); LN (Linfonodal); IMC (Índice de Massa Corporal); TN (Triplo Negativo).

Figura 22 – Fotomicrografias analisadas por imunofluorescência da imunexpressão de PTPRN2 em Carcinoma Inflamatório



Fonte: Dados da Pesquisa (2025).
Legenda: Fotomicrografias representativas da alta e baixa expressão de PTPRN2 em amostras de tumor primário no grupo CIM. Todas as análises de imagem foram executadas utilizando o microscópio de imunofluorescência Cytation do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos. DAPI – Marcador de núcleo; RED – vermelho em inglês, marcador da proteína; MERGE – Co-marcação do DAPI e proteína PTPRN2. CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama). High (alta expressão); Low (baixa expressão).

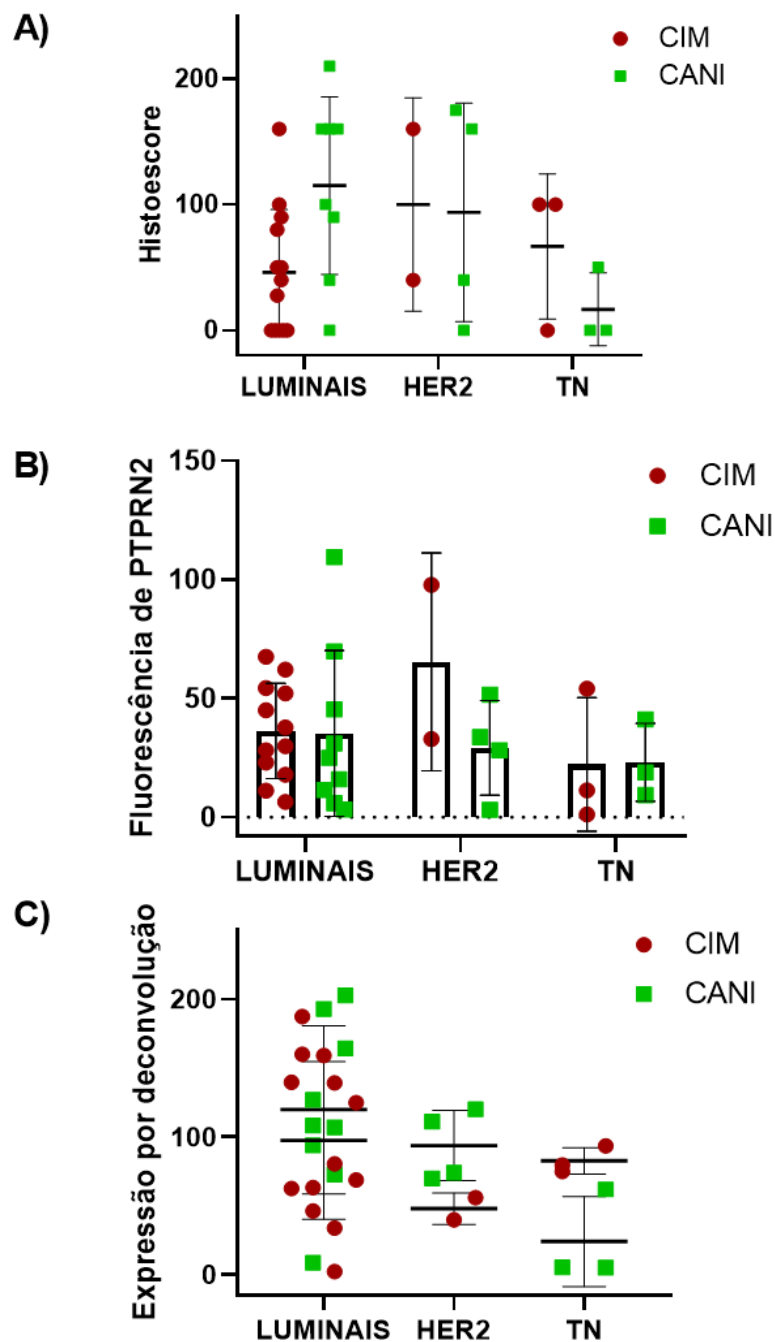
Tabela 13 – Associação da alta e baixa expressão da imunomarcagem por imunofluorescência para PTPRN2 no Carcinoma Inflamatório e Não Inflamatório da Mama com parâmetros clínico-patológicos

Variáveis	Expressão de PTPRN2 CIM				p-Valor	Expressão de PTPRN2 CANI			p-Valor
	Total 17 (100%)	High 9 (52,94%)	Low 8 (47,06%)			Total 16 (100%)	High 6 (%)	Low 10 (%)	
Idade (anos)									
≤45	3 (17,6%)	2 (22,2%)	1 (12,5%)	0,9999	7 (43,7%)	2 (33,3%)	5 (50%)	0,6329	
>45	14 (82,4%)	7 (77,8%)	7 (87,5%)		9 (56,3%)	4 (66,7%)	5 (50%)		
Raça									
Parda	14 (82,4%)	8 (88,9%)	6 (75%)	0,5765	14 (87,5%)	5 (83,3%)	9 (90%)	0,9999	
Branca	3 (17,6%)	1 (11,1%)	2 (25%)		2 (12,5%)	1 (16,7%)	1 (10%)		
Histórico Familiar									
Sim	8 (47%)	5 (55,6%)	3 (37,5%)	0,6193	8 (50%)	3 (50%)	5 (50%)	0,9999	
Não	7 (41,2%)	3 (33,3%)	4 (50%)		7 (43,8%)	3 (50%)	4 (40%)		
Não informado	2 (11,8%)	1 (11,1%)	1 (12,5%)		1 (6,2%)	0 (0%)	1 (10%)		
Estágio									
III	11 (64,7%)	7 (77,8%)	4 (50%)	0,3348	9 (56,2%)	4 (66,7%)	5 (50%)	0,6329	
IV	6 (35,3%)	2 (22,2%)	4 (50%)		7 (43,8%)	2 (33,3%)	5 (50%)		
Estadiamento N									
N0	1 (6%)	0 (0%)	1 (12,5%)	-	1 (6,2%)	1 (16,7%)	0 (0%)	-	
N1	4 (23,5%)	3 (33,3%)	1 (12,5%)		8 (50%)	2 (33,3%)	6 (60%)		
N2	8 (47%)	2 (22,2%)	6 (75%)		4 (25%)	2 (33,3%)	2 (20%)		
N3	4 (23,5%)	4 (44,5%)	0 (0%)		3 (18,8%)	1 (16,7%)	2 (20%)		

Metástase								
M0	13 (76,5%)	7 (77,8%)	6 (75%)	0,9999	9 (56,2%)	4 (66,7%)	5 (50%)	0,6329
M1	4 (23,5%)	2 (22,2%)	2 (25%)		7 (43,8%)	2 (33,3%)	5 (50%)	
Índice de proliferação ki67								
<20%	4 (23,5%)	3 (33,3%)	1 (12,5%)	0,5765	7 (43,8%)	3 (50%)	4 (40%)	0,9999
≥20%	13 (76,5%)	6 (66,6%)	7 (87,5%)		9 (56,2%)	3 (50%)	6 (60%)	
Quimioterapia Neoadjuvante								
AC-T	13 (76,5%)	8 (88,9%)	5 (62,8%)	-	12 (%)	4 (66,7%)	8 (80%)	-
AC	2 (11,8%)	1 (11,1%)	1 (12,5%)		2 (%)	0 (0%)	2 (20%)	
Outros	2 (11,8%)	0 (0%)	2 (25%)		2 (%)	2 (33,3%)	0 (0%)	
Resposta clínica								
Remissão	6 (35,2%)	5 (55,5%)	1 (12,5%)	0,1451	4 (25%)	1 (16,7%)	3 (30%)	0,9999
Óbito	10 (58,8%)	4 (44,5%)	6 (75%)		9 (56,2%)	4 (66,6%)	5 (50%)	
NA	1 (6%)	0 (0%)	1 (12,5%)		3 (18,8%)	1 (16,7%)	2 (20%)	

Na Figura 23 foi realizada a avaliação da expressão de PTPRN2 em amostras de tumor primário classificadas a partir subtipo molecular a por meio dos escores (Figura A), do percentual de fluorescência (Figura B) e de deconvolução (Figura C) podendo constatar que não houve diferença significativa ($p>0,05$). Entretanto, observa-se uma tendência de amostras com subtipo luminal apresentando maior expressão proteica, sobretudo na figura C.

Figura 23 – Avaliação da expressão de PTPRN2 em amostras de tumor primário classificadas por subtipo molecular



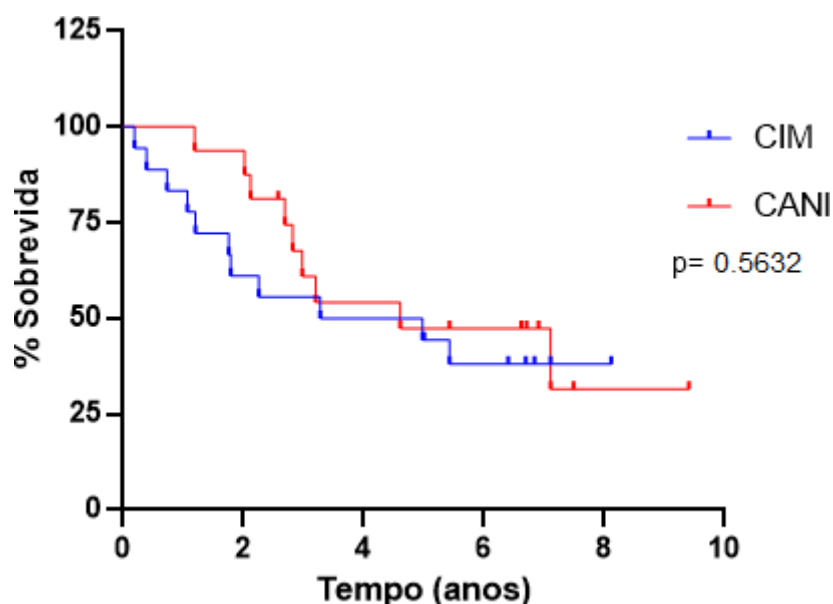
Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: Gráficos com a expressão de PTPRN2 em amostras de tumor primário dos grupos CIM e CANI classificadas por seu subtipo molecular. Ainda que não tenha gerado dados com diferença estatística, observa-se que pacientes com subtipo luminal estão expressando a proteína em maior intensidade. No gráfico C, somente constam 2 amostras de CIM com subtipo triplo negativo, pois a imagem durante a quantificação por deconvolução ficou comprometida. CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama). HER2 (Receptor Epidérmico Humano 2); TN (Triplo Negativo).

6.6 Avaliação da curva de sobrevida

Na avaliação da curva de sobrevida global (**Figura 24**) entre pacientes com carcinoma inflamatório e não inflamatório, não foi evidenciada diferença significativa ($p=0,5632$).

Figura 24 – Curva de Kaplan-Meier da sobrevida global de pacientes com Carcinoma Inflamatório da Mama (CIM) e Carcinoma Não Inflamatório da Mama (CANI)



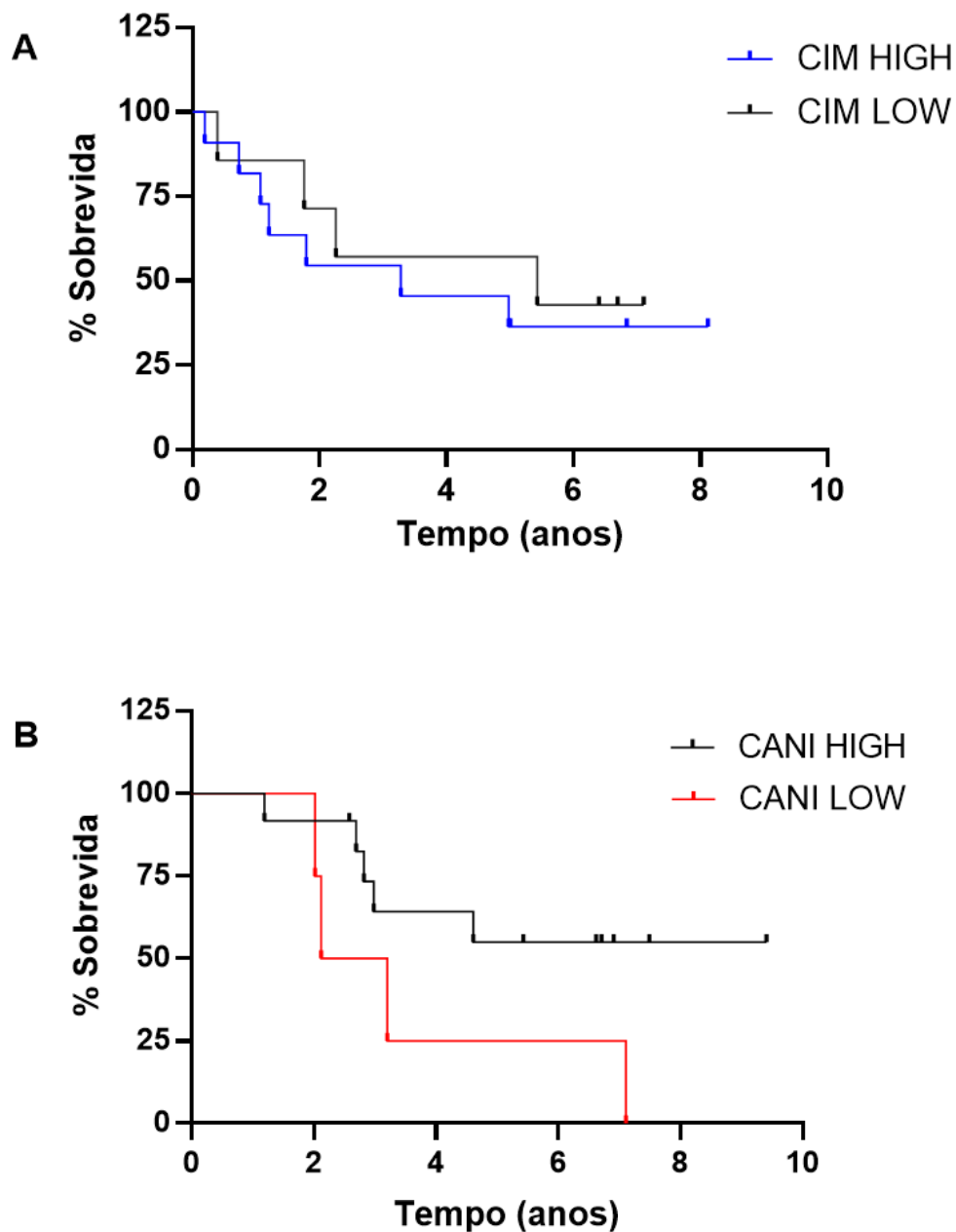
Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: A análise de Kaplan-Meier mostra que não há diferença na sobrevida global de dez anos nos grupos de câncer de mama inflamatório e não inflamatório de pacientes que apresentam expressão de PTPRN2. O valor P foi obtido pelo teste de log-rank das curvas de Kaplan-Meier.

Análise de Kaplan-Meier *log-rank p-valor: 0,5632. CIM= 18, CANI=16. (CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama)).

As curvas de sobrevida estratificadas de acordo com a alta ou baixa expressão de PTPRN2 são apresentadas na **Figura 25**. Contudo, não houve diferença significativa entre elas (CIM e PTPRN2 ($p=0,6450$); para CANI e PTPRN2 ($p=0,0962$)). Porém, enquanto no grupo CIM, pacientes com maior expressão (*high*) de PTPRN2 apresentaram maior frequência de óbito, no grupo CANI, quem tinha a menor expressão (*low*) de PTPRN2 é que apresentaram maior frequência de óbitos.

Figura 25 – Curva de Kaplan-Meier da sobrevida global de pacientes com Carcinoma Inflamatório da Mama (CIM) e Carcinoma Não Inflamatório da Mama (CANI) relacionando a expressão de proteína PTPRN2



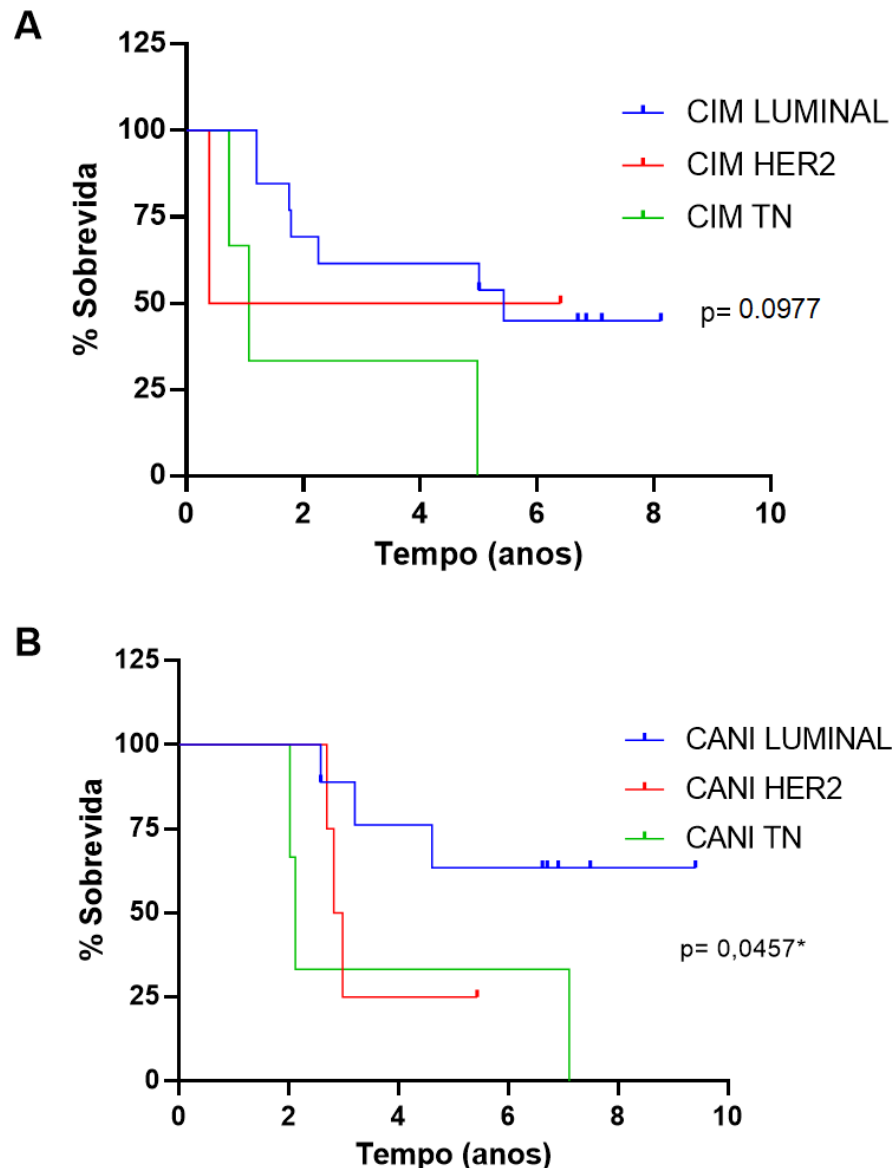
Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: A análise de Kaplan-Meier mostra que não há diferença na sobrevida global de dez anos nos subgrupos de câncer de mama inflamatório e não inflamatório de pacientes que apresentam expressão alta ou baixa expressão de PTPRN2. O valor P foi obtido pelo teste de log-rank das curvas de Kaplan-Meier. Análise de Kaplan-Meier para CIM e PTPRN2 ($p=0,6450$); para CANI e PTPRN2 ($p=0,0962$). CIM= 18, CANI=16. (CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama). HIGH: alta expressão. LOW: baixa expressão.

Na análise de sobrevida com relação aos subtipos moleculares (**Figura 26**) em ambos os grupos, percebe-se que as pacientes do grupo CIM (**A**) com tumores luminais apresentaram uma melhor sobrevida, embora não tenha sido detectada uma diferença

significativa entre os subtipos. Já no grupo CANI, na avaliação por *log-rank for trend* houve significância (* $p= 0,0457$) ao compararmos o pior desfecho das pacientes com tumores triplo-negativo em relação ao desfecho das pacientes com tumores luminais.

Figura 26 – Curva de Kaplan-Meier da sobrevida das pacientes com Carcinoma Inflamatório da Mama (CIM) e Carcinoma Não Inflamatório da Mama (CANI) relacionando aos subtipos moleculares



Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

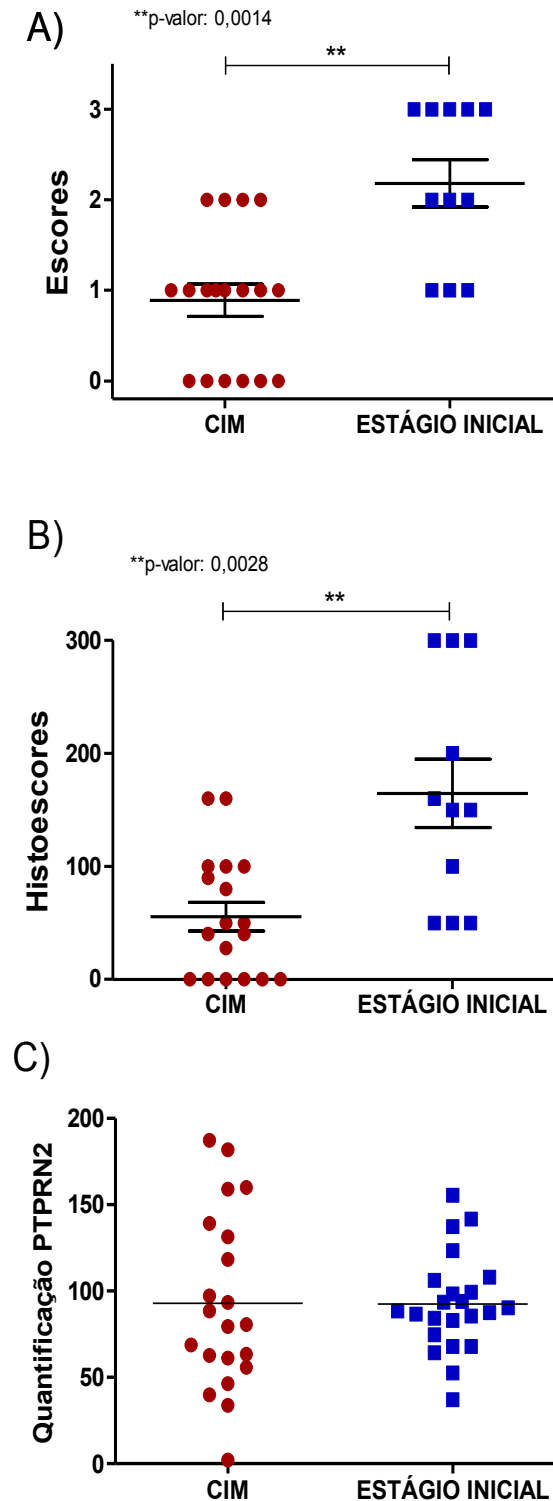
Legenda: A análise de Kaplan-Meier mostra que não há diferença na sobrevida global de dez anos em ambos os grupos divididos por subtipo molecular. O valor P foi obtido pelo teste de log-rank das curvas de Kaplan-Meier. Análise de Kaplan-Meier para CIM e PTPRN2 ($p=0,0977$); para CANI e PTPRN2 (* $p=0,0457$). CIM= 18, CANI=16. (CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama). HIGH: alta expressão. LOW: baixa expressão. *log-rank for trend (p- valor): 0,0457. HER2 (Fator de Crescimento Epidérmico Humano 2). TN (Triplo Negativo).

6.7 Expressão da PTPRN2 em tumores de mama triplo negativo em estágio inicial

Mediante a ausência de diferença de expressão de PTPRN2 entre os grupos com tumores avançados inflamatório e não inflamatório, foi investigado se essa expressão seria diferencial em amostras de pacientes em estágio inicial (de acordo com o estadiamento TNM, foram considerados os T1 e T2), com tumores menos avançados, mas também agressivo. Para isso foi incluído uma nova coorte com amostras de tumor primário de 23 pacientes com Câncer de Mama Triplo Negativo não inflamatório em estágio inicial (I e II) atendidas no Hospital do Câncer Haroldo Juaçaba do Instituto do Câncer do Ceará (HHJ/ICC), de 2012 a 2020. As pacientes tinham em média 53 anos de idade.

Adicionalmente, a técnica de imunohistoquímica para PTPRN2 foi realizada e executadas as devidas análises: análise cega por escores pelo patologista, histocores e deconvolução, obtendo os resultados das figuras abaixo. Assim, as análises revelaram uma expressão de PTPRN2 significativamente diferencial em amostras de pacientes em estágio inicial em comparação aos pacientes com carcinoma inflamatória pelos escores ($p=0,0014$) na **Figura 27A** e pelo histoescor (p=0,0028) na **Figura 27B**, indicando que há uma relação entre a expressão de PTPRN2 e estágios mais iniciais do câncer de mama. Entretanto na **Figura 27C**, não foi evidenciada diferença de expressão de PTPRN2 pelo método de deconvolução. Na **Figura 28** está representada uma marcação moderada (escore 2) e intensa (escore 3) nas amostras de tumores triplo negativo do grupo em estágio inicial. Foram selecionadas as imagens que melhor representaram os achados obtidos por meio das análises realizadas. A maioria das amostras apresentaram escores 2 e 3, enquanto nenhuma amostra apresentou ausência de marcação para PTPRN2 nesse grupo.

Figura 27 – Quantificação da expressão de PTPRN2 por imunohistoquímica com amostras de tumor primário de pacientes com Carcinoma Inflamatório da Mama e em estágio clínico menos avançado

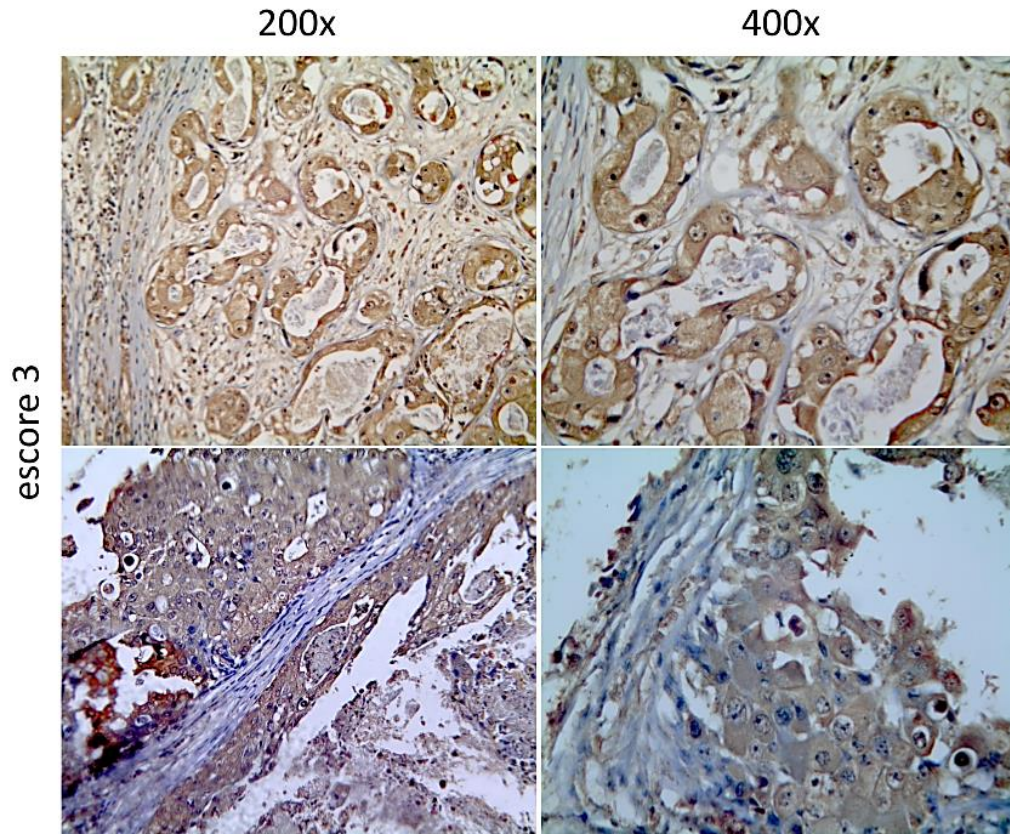


Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: Análise da expressão da proteína PTPRN2 em amostras de pacientes em estadiamento 1 e 2 por imunohistoquímica avaliada por escores avaliados pelo patologista (A), quantificação da expressão pelo Histo-escore (B) e por deconvolução (C). As amostras de tumor primário no grupo em estágio inicial foram significativamente maiores em relação às amostras de pacientes com carcinoma

inflamatório, com significância (**p-valor: 0,0014) quando avaliadas pelo escore, quando avaliadas pelo histoescor (**p-valor: 0,0028), exceto pela deconvolução (p-valor>0,05). TP: tumor primário; TA: tecido adjacente. As figuras mostram a distribuição dos escores, do intervalo de histoescor e percentual de área marcada do marcador PTPRN2 nos 18 pacientes do grupo CIM.

Figura 28 – Expressão moderada e intensa da proteína PTPRN2 em amostras de Câncer de Mama Triplo Negativo de pacientes em estágio inicial



Fonte: Dados da pesquisa (2025)

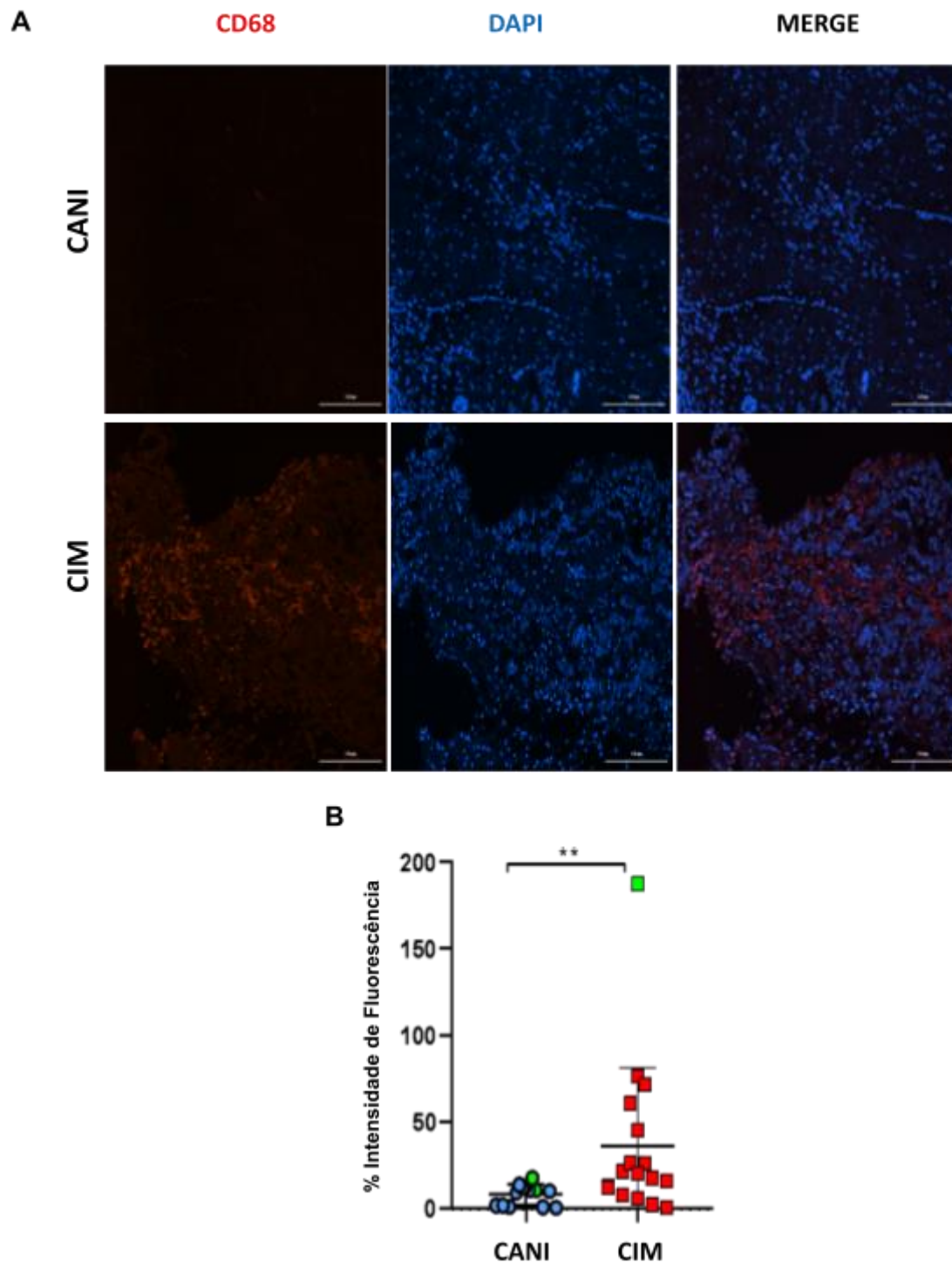
Legenda: A figura mostra quatro campos de tumor de mama triplo negativo em diferentes aumentos (200× e 400×). Em ambos os tecidos tumorais há blocos de células neoplásicas expressando PTPRN2 no citoplasma com coloração intensa (escore 3) em ambos os casos.

6.8 Avaliação de macrófagos por imunofluorescência

Na imunofluorescência para identificar a infiltração de macrófago, marcadas pelo CD68, a análise fenotípica mostrou uma infiltração consideravelmente maior em amostras de pacientes com CIM em referência ao CANI, podendo ser expressamente percebido na **Figura 29A**, em que é demonstrada uma diferença no padrão de expressão de CD68. Ao investigar a infiltração a partir da quantificação do percentual de fluorescência na **Figura 29B**, estabeleceu-se uma expressão diferencial com significância nas amostras de CIM. Diante disso, as amostras de CIM apresentaram maior expressão de CD68, sobretudo na amostra da paciente com subtipo molecular triplo negativo, em que a proteína CD68 foi ainda mais expressa (representada pelo ponto verde na **Figura 29B**).

Na associação do CD68 com parâmetros clínico-patológico das pacientes submetidos ao teste estatístico (**Tabela 14**), os pacientes com CIM apresentaram padrões comparáveis de idade, histórico familiar, obesidade, envolvimento linfonodal, metástase e níveis de expressão de receptor de estrógeno, receptor de progesterona e KI-67 acima de 20% com $p > 0,05$ versus pacientes com CANI. Na segmentação dos dados de imunoexpressão com aspectos clínicos-patológicos, uma associação significativa foi vista em pacientes CIM com expressão de HER2 amplificado ($107,0 \pm 137,5$) versus amostras negativas para HER2 do mesmo grupo ($30,9 \pm 44,9$) e grupo CANI [$F(1,41) = 4,531$, $p=0,0394$].

Figura 29 – Expressão diferencial da proteína CD68 em amostras de CIM e CANI



Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama). Todas as análises de imagem foram executadas utilizando o microscópio de imunofluorescência Cytoation do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos. DAPI – Marcador de núcleo; RED – vermelho em inglês, marcador da proteína; MERGE – Co-marcação do DAPI e proteína PTPRN2. Os valores são expressos como médias $\pm$ DP. Os dados foram analisados pelo teste de Mann-Whitney. A significância estatística foi estabelecida em ** $p < 0,01$. Os pontos verdes representam a expressão em tumores TN.

Tabela 14 – Associação da expressão IF de CD68 com parâmetros clínico-patológicos

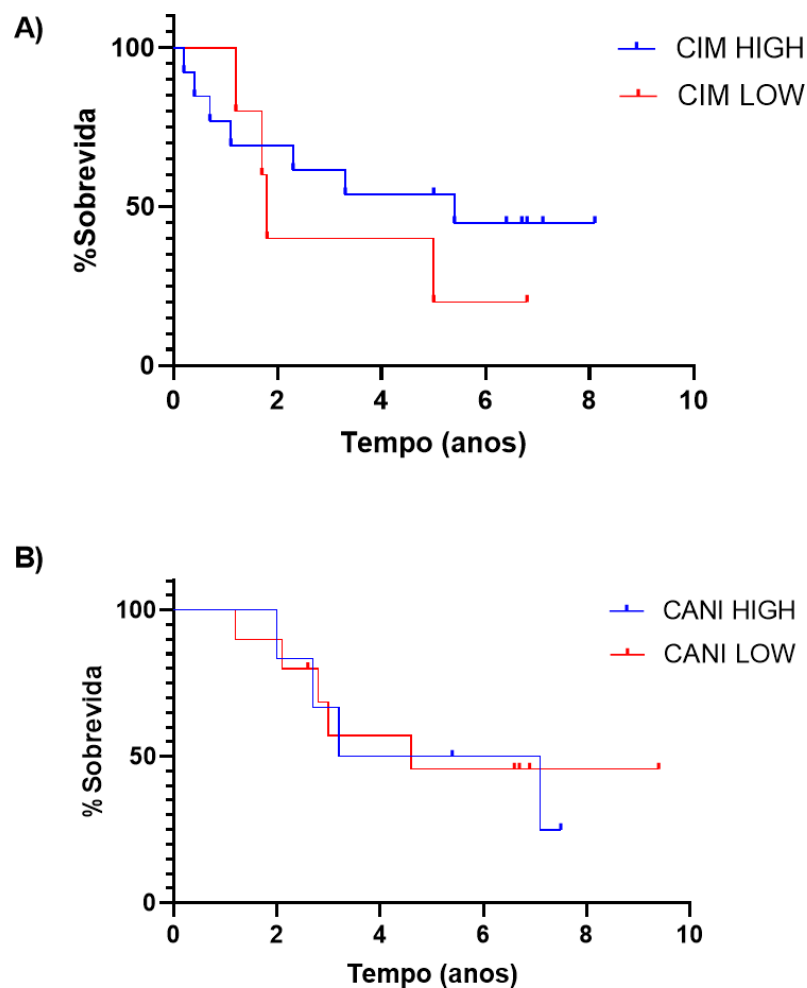
Parâmetro	Expressão de CD68 (%)		Valor de p
	CIM	CANI	
	(N=18)	(N=17)	
	Média ± DP	Média ± DP	
Idade			
< 45a	55,7±76,1	8.7±6.7	0.3555
≥ 45a	30,5±47,2	9.9±12.3	
Histórico familiar			
Não	19.1±23.3	5.1±3.6	0.5491
Sim	55,9±73,3	10.3±5.9	
Desconhecido	26.1±0.0	11.0±15.2	
Obesidade			
Não (IMC <30 Kg/m2)	43,9±62,6	10.5±12.1	0.5310
Sim (IMC ≥ 30 Kg/m2)	19,4±24,8	4.8±4.1	
Estágio LN			
Negativo	6.1±2.2	10.9±0.0	0.5218
Positivo	38,9±56,0	9.5±11.0	
Metástase			
M0	41,4±64,8	6.9±6.0	0.4547
M1	26,8±27,1	11.8±13.4	
Receptor hormonal			
ER-	61,1 ± 68,7	8,7 ± 6,7	0.1999
ER+	27,2 ± 47,2	9,9 ± 12,3	
PR-	55,5 ± 66,8	10,7 ± 5,1	0.3246
PR+	27,8 ± 47,8	8,8 ± 13,4	
HER2			
Negativo	30,9 ± 44,9	10,1 ± 11,5	0.0394*
Positivo	107,0 ± 137,5	7,5 ± 7,7	
Ki-67			
Ki67 <20%	27,0 ± 28,9	16,0 ± 15,0	0.4640
Ki67 ≥ 20%	38,5 ± 59,3	6,1 ± 5,6	
TN			
Não	28,6 ± 44,6	9,1 ± 11,5	0.1648
Sim	79,1 ± 89,2	12,5 ± 4,4	

Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama); RE (Receptor de Estrógeno); RP (Receptor de Progesterona); HER2 (Fator de Crescimento Epidérmico Humano 2); LN (Linfonodal); IMC (Índice de Massa Corporal); TN (Triplo Negativo).

As curvas de sobrevida estratificadas de acordo com a alta ou baixa infiltração de macrófagos são apresentadas na **Figura 30**. Contudo, não foi possível constatar diferença significativa entre elas, pois $p > 0,05$.

Figura 30 – Avaliação da curva de sobrevida em associação a proteína CD68 em amostras de CIM e CANI



Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: A análise de Kaplan-Meier mostra que não há diferença na sobrevida de pacientes com alta ou baixa expressão de macrófagos. O valor P foi obtido pelo teste de log-rank das curvas de Kaplan-Meier. Análise de Kaplan-Meier para CIM e CD68 ($p=0,4371$); para CANI e CD34 ($p=0,8900$). CIM= 18, CANI=16. (CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama). High: alta expressão. Low: baixa expressão.

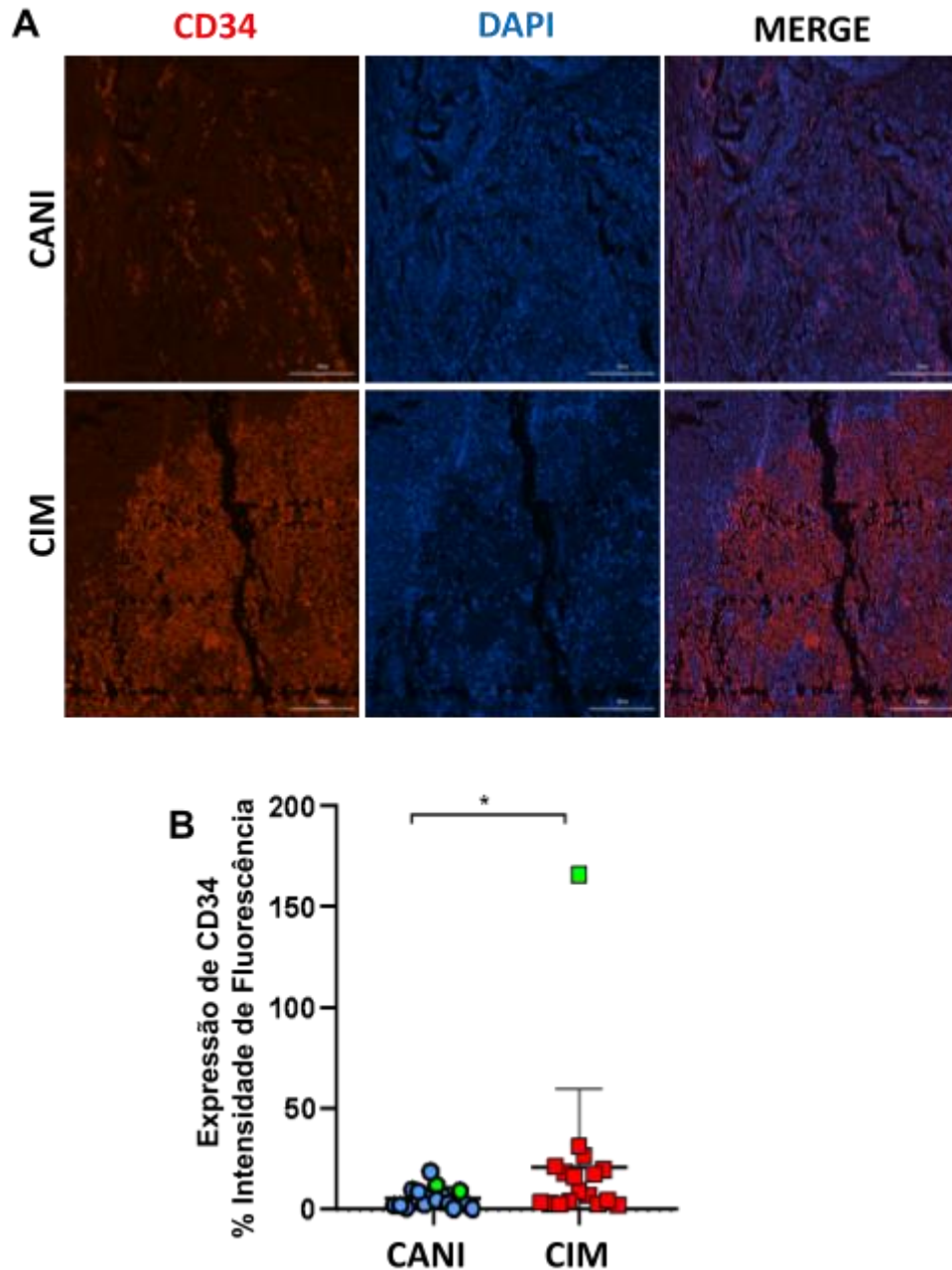
6.9 Avaliação de células endoteliais por imunofluorescência

A análise da presença de células endoteliais foi realizada pela imunofluorescência para CD34, a análise fenotípica exibiu uma expressão de PTPRN2 significativamente maior em amostras de tumor primário de pacientes com CIM em relação ao CANI, podendo ser notadamente observada nas fotomicrografias abaixo (**Figura 31A**), em que um campo parecido com relação ao número de células em ambos os grupos demonstra a clara diferença no padrão de expressão de CD34. Na avaliação da expressão a partir do percentual de área marcada nos campos, estabeleceu-se uma expressão diferencial nas amostras de CIM, comprovando que a proteína CD34 está em maior abundância no grupo CIM comparado ao CANI, sobretudo na amostra da paciente com subtipo molecular triplo negativo, em que a proteína CD34 foi ainda mais expressa (representada pelo ponto verde na **Figura 31B**).

Na associação do CD34 com dados clínico-patológico das pacientes submetidos ao teste estatístico (**Tabela 15**), os pacientes com CIM apresentaram padrões comparáveis de obesidade, envolvimento linfonodal, metástase e níveis de expressão de receptor de estrógeno, receptor de progesterona, HER2 e KI-67 acima de 20% com $p > 0,05$ versus pacientes com CANI. Na estratificação dos dados de imunoexpressão com aspectos clínicos-patológicos, uma correlação significativa foi vista em pacientes com expressão negativa de receptor de estrógeno ($64,1 \pm 88,3$) versus amostras positivas do mesmo grupo ($11,4 \pm 10,3$) e grupo CANI ($5,4 \pm 4,5$). [$F(1,29) = 6,938$, $p = 0,0134$].

Ademais, o mesmo padrão de significância foi encontrado em amostras com subtipo molecular triplo negativo do grupo CIM, ($166,0 \pm 0,0$) quando comparadas com amostras TN do grupo CANI ($10,4 \pm 2,1$) [$F(1,29) = 2,629$, $p = 0,0001$].

Figura 31 – Expressão diferencial da proteína CD34 em amostras de CIM e CANI



Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama). Todas as análises de imagem foram executadas utilizando o microscópio de imunofluorescência Cytoation do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos. DAPI – Marcador de núcleo; RED – vermelho em inglês, marcador da proteína; MERGE – Co-marcação do DAPI e proteína PTPRN2. Os valores são expressos como médias $\pm$ DP. Os dados foram analisados pelo teste de Mann-Whitney. A significância estatística foi estabelecida em $* p < 0,05$. Os pontos verdes representam a expressão em tumores TNBC.

Tabela 15 – Associação da expressão IF de CD34 com parâmetros clínico-patológicos

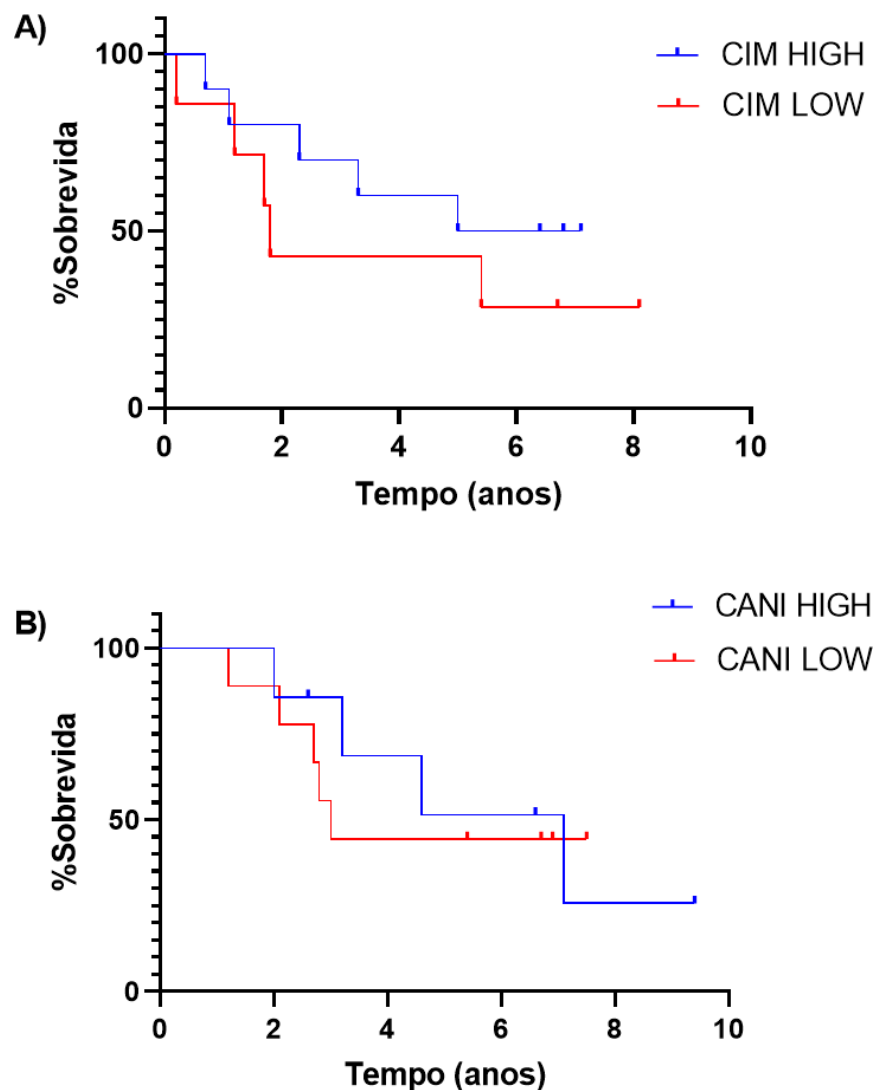
Parâmetro	Expressão de CD34 (%)		Valor de <i>p</i>
	CIM	CANI	
	(N=17)	(N=16)	
	Média ± DP	Média ± DP	
Idade			
<45a	17.2±1.0	4.0±5.1	0.9332
≥ 45	21,5±42,8	6.3±5.1	
História familiar			
Não	11.3±12.1	5.1±4.6	0.5125
Sim	35,2±58,2	5.5±3.0	
Desconhecido	7,9±1,6	5.5±7.0	
Obesidade			
Não (IMC <30 Kg/m2)	26.1±45.2	5.1±5.2	0.4147
Sim (IMC ≥ 30 Kg/m2)	7.8±6.4	8.8±4.4	
Estágio LN			
Negativo	9.0±0.0	8,8±0,0	0.7041
Positivo	21,5±39,7	5.2±5.1	
Metástase			
M0	12.6±11.7	3.7±2.2	0.6848
M1	24.1±45.5	6.0±5.6	
Receptor hormonal			
ER-	64,1 ± 88,3	5,4 ± 4,5	0,0134*
ER+	11,4 ± 10,3	5,5 ± 5,6	
PR-	49,1 ± 78,2	6,7 ± 6,7	0.0927
PR+	12,0 ± 10,4	4,4 ± 3,4	
HER2			
Negativo	21,8 ± 41,1	6,1 ± 5,6	0.8107
Positivo	12,6 ± 5,1	3,5 ± 2,1	
Ki-67			
Ki67 <20%	11,3 ± 13,4	3,4 ± 3,0	0.6857
Ki67 ≥ 20%	23,6 ± 43,6	6,7 ± 5,7	
TN			
Não	11,6 ± 9,7	4,7 ± 4,9	0,0001*
Sim	166,0 ± 0,0	10,4 ± 2,1	

Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama); RE (Receptor de Estrógeno); RP (Receptor de Progesterona); HER2 (Fator de Crescimento Epidérmico Humano 2); LN (Linfonodal); IMC (Índice de Massa Corporal); TN (Triplo Negativo).

As curvas de sobrevida estratificadas de acordo com a alta ou baixa expressão de CD34 são apresentadas na **Figura 32**. Contudo, não foi possível constatar diferença significativa entre elas, pois $p > 0,05$.

Figura 32 – Curvas de sobrevida em associação a presença de proteína CD34 em amostras de CIM e CANI



Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: A análise de Kaplan-Meier mostra que não há diferença na sobrevida de pacientes com alta ou baixa expressão de células endoteliais. O valor P foi obtido pelo teste de log-rank das curvas de Kaplan-Meier. Análise de Kaplan-Meier para CIM e CD34 ($p=0,3793$); para CANI e CD34 ($p=0,7739$). CIM= 18, CANI=16. (CIM (Carcinoma Inflamatório da Mama); CANI (Carcinoma Não Inflamatório da Mama). High: alta expressão. Low: baixa expressão.

6.10 Avaliação da correlação de Spearman entre PTPRN2, macrófagos e células endoteliais

Adicionalmente, para visualizar a interação entre as proteínas PTPRN2, CD68 e CD34 foi realizada análise de correlação sem classificar as pacientes com diagnóstico de carcinoma inflamatório e não inflamatório da mama. Assim, no resultado entre PTPRN2 e CD68 (**Figura 33A**), foi observada uma correlação negativa e significativa ($r: -0,3845$; $p=0,0188$), indicando que há uma relação inversamente proporcional entre a expressão de PTPRN2 e níveis de macrófagos (CD68). Destacando que quanto mais macrófagos são expressos, mais a PTPRN2 se ausenta. Entretanto na **Figura 33B**, não foi evidenciada diferença entre PTPRN2 e CD34 ($p>0,05$). Por sua vez, na **Figura 33C** houve correlação positiva entre os níveis de macrófagos e de células endoteliais (CD34) ($r=0,4113$; $p=0,0127$). Ou seja, conforme a expressão de macrófagos aumenta, mais células endoteliais são expressas. Uma tabela resumindo os achados foi elaborada (**Tabela 16**).

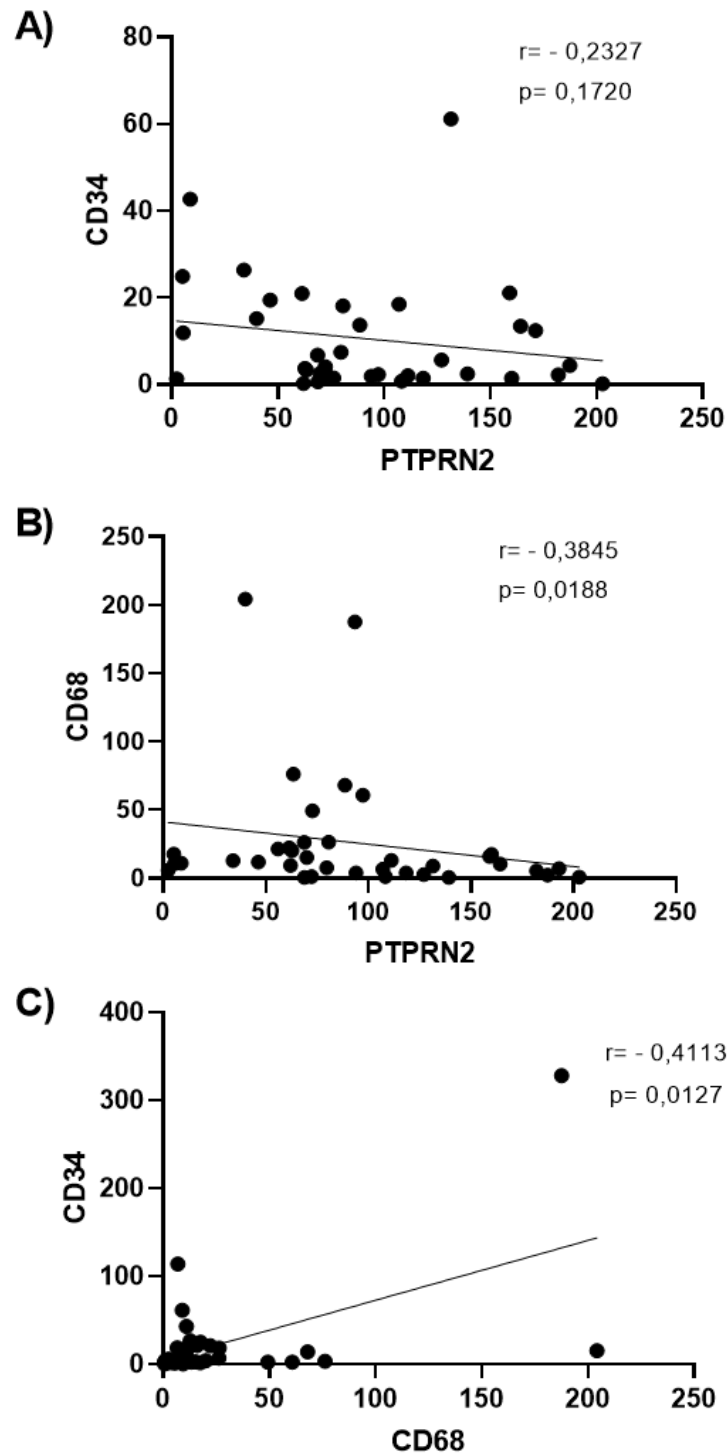
Tabela 16 – Resumo da correlação entre as proteínas

CORRELAÇÃO	RESULTADO	ANÁLISE
PTPRN2 vs. macrófagos (CD68)	Correlação negativa e significativa ($r= -0,3845$; $p=0,0188$)	Quanto maior a expressão de macrófagos, menor a expressão de PTPRN2
PTPRN2 vs. células endoteliais (CD34)	Correlação fraca e não significativa ($r=-0,2327$; $p=0,1720$)	Necessita de mais estudo
Macrófagos vs. células endoteliais	Correlação positiva e significativa ($r=0,4113$; $p=0,0127$)	Quanto mais macrófagos, mais células endoteliais, mais vasos

Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: Tabela resumindo a correlação encontrada entre as proteínas PTPRN2, CD68 e CD34 com resultado e interpretação dos dados.

Figura 33 – Coeficiente de correlação de Spearman entre PTPRN2, CD68 e CD34



Fonte: Dados da Pesquisa (2025).

Legenda: A análise de correlação de Spearman foi utilizada para comparar a relação das proteínas dentro do estudo. Na figura A mostra que quanto mais macrófagos (CD68) são expressos no microambiente tumoral, menos PTPRN2 se expressa ($r: -0,3845$; $p=0,0188$). No entanto, não foi possível estabelecer correlação significativa entre PTPRN2 e células endoteliais (CD34), pois $p>0,05$ na figura B. Adicionalmente, foi possível destacar correlação positiva ($r=0,4113$; $p=0,0127$) entre CD68 e CD34, confirmando que as células endoteliais acompanham o aumento de macrófagos na evolução do tumor.

7. DISCUSSÃO

Na presente pesquisa foram analisados e mensurados dados de imunoexpressão das proteínas PTPRN2 em tecidos biológicos de tumor e tecido adjacente ao tumor obtidas de pacientes com Carcinoma Inflamatório da Mama e de pacientes com Carcinoma Não Inflamatório da Mama tratadas em uma instituição de referência no câncer do Estado do Ceará, além de pacientes com câncer triplo negativo em estágio inicial. Partiu-se do pressuposto de que esses marcadores estariam aumentados em termo de expressão nas amostras de tumor primário de CIM, auxiliando seu curso clínico agressivo. Além disso, a PTPRN2 ainda não havia sido estudada no Carcinoma Inflamatório da Mama, o que torna esse estudo, inovador. A PTPRN2 é uma proteína transmembrana envolvida na regulação e liberação de insulina que tem despertado curiosidade como um possível biomarcador nos cânceres em geral, como câncer de mama, câncer colorretal e câncer de próstata.

Adicionalmente, analisamos a infiltração de macrófagos e células endoteliais no microambiente tumoral desses tumores avançados de mama. Enquanto a glicoproteína CD68, marcador potencial de macrófagos M0 e a proteína CD34, marcador de células endoteliais já têm sido bastante documentadas no MAT com impacto positivo na progressão tumoral em diversas neoplasias, a PTPRN2 não foi estudada no curso do carcinoma inflamatório, o que torna esse estudo, inovador.

Os dados de expressão obtidos foram associados com propriedades clínico-patológicas, como invasão linfonodal, disseminação metastática, presença de acometimento linfovascular, índice proliferativo de células, grau histológico, assim como variáveis clínicas importantes, das quais idade, índice de massa corporal, *status* atual e histórico familiar também foram incluídas. Sendo todas essas características de extrema importância, uma vez que são usadas para determinar o prognóstico, direcionar o tratamento e individualizar a terapia oncológica, além de prever a progressão da doença, o comportamento do tumor, o risco de recidiva e a sobrevida global (Barzaman *et al.*, 2020; Nolan *et al.*, 2023).

O estudo incorporou amostras em H&E (Hematoxilina e Eosina) de tumor primário e tecido peritumoral de pacientes com carcinoma inflamatório. Enquanto o tumor apresentava um perfil exacerbado de células neoplásicas gigantes com núcleos em diferentes morfologias, além de uma arquitetura que contribui na formação de novos vasos, o tecido adjacente ao tumor apresentava muita gordura, estroma e ausência de células cancerígenas. A análise histopatológica das nossas amostras corroboram dados da literatura que também trazem esse perfil de células alteradas incapazes de seguir o padrão histológico mamário

normal, ou seja, em multiplicação desordenada, tornando o ambiente tumoral ainda mais hipóxico, afetando a forma como as células neoplásicas se comportam (Dekker *et al.*, 2022), assim como blocos de células em necrose contribuindo para formação exacerbada de novos capilares (Colpaert *et al.*, 2003). Essas características histopatológicas apresentadas nesse estudo corroboram outros trabalhos com amostras teciduais com o mesmo perfil histológico, induzindo estudiosos a pensarem que as células do carcinoma inflamatório apresentam características únicas capazes de torná-lo um câncer totalmente peculiar e agressivo (Menta *et al.*, 2018).

Com relação à presença de êmbolos, nossos resultados evidenciaram essas alterações inflamatórias expressas na pele da mama das pacientes com CIM. Embora não seja um sinal patognomônico do carcinoma inflamatório, há nessas pacientes uma extensa área linfática dérmica apresentando êmbolos tumorais, como representada nas fotomicrografias no estudo. Essas alterações provêm da invasão linfática dérmica, uma vez que os êmbolos tumorais invadem os espaços linfovasculares dérmicos e os ocupam, obstruindo-os (Kubota *et al.*, 2016). As células que formam os êmbolos costumam ter um alto grau nuclear com um fenótipo ductal (Rosen, 2001). Há estudo sugerindo que sua gênese esteja associada a demasiada expressão de Caderina-E hiperativando o eixo Caderina-E / α , β -cateninas, que é um eixo de adesão esquemático associado ao citoesqueleto de actina, e que é o aumento de expressão da Caderina-E no CIM corrobora com a presença de êmbolos linfático dérmicos (Tomlinson *et al.*, 2001), nessa etapa da progressão tumoral, pois as células tumorais agrupadas em êmbolos que infiltram os vasos sobrevivem mais que as células infiltrantes isoladas (Fouad *et al.*, 2017).

Partindo para a avaliação das técnicas na busca de possíveis biomarcadores prognósticos, a expressão de PTPRN2 por imuno-histoquímica apresentou um perfil de expressão quase que exclusivamente nas células tumorais com uma localização predominantemente citoplasmática. Esse achado corrobora estudos anteriores que demonstraram esse mesmo padrão de imunoexpressão nos tecidos neoplásicos (Sorokin *et al.*, 2015). Os dados da imuno-histoquímica foram analisados por três métodos distintos: análise qualitativa por meio da gradação de marcação pela intensidade de coloração por escore analisados pelo patologista; possibilitando realizar a contagem por histoescore ponderado e pelo método de quantificação de área marcada por deconvolução de imagens.

Nossos achados apresentaram uma diferença significativa na expressão de PTPRN2 nas amostras teciduais de tumor e tecido adjacente, assim, foi possível perceber que 80% das amostras de tecido adjacente obtiveram escore 0, significando ausência de marcação,

diferentemente do tumor primário, que a intensidade de expressão foi observada em mais exemplares ($p=0,0277$). Na comparação por histoescore, foi possível perceber um perfil de significância de expressão do tumor em relação ao tecido peritumoral com $p=0,0157$. Na comparação por deconvolução, foi possível estabelecer diferença significativa entre TP e TA ($p=0,0012$) nas amostras de carcinoma inflamatório. Assim como na apresentação dos dados a partir da imunofluorescência, que validou os resultados no tumor primário ($p=0,0016$). Esses achados corroboram dados da literatura que apontam para um perfil de expressão aumentado ou retido ao tecido tumoral (Sorokin *et al.*, 2015; Yin; Guo, 2021).

Adicionalmente, pode-se comparar com dados de um grupo parceiro da UNIFESP que trabalha com carcinoma inflamatório da mama, que obteve em seus resultados um perfil diferencial de metilação do DNA em amostras de tumor primário com relação a amostras de tecido adjacente das mesmas pacientes (Faldoni *et al.*, 2024). Os dados mostraram que amostras tumorais de CIM apresentaram um grande número de alterações epigenéticas, com mais hipometilação em regiões do genoma, regiões que podem ativar genes que promovem o crescimento do tumor e mais hipermetilação nas ilhas CpG, que pode silenciar genes supressores tumorais, ou seja, que controlam o crescimento do tumor (Faldoni *et al.*, 2024). Mas, vale ressaltar que a proteína não foi totalmente ausente em algumas amostras de tecido adjacente, algumas apresentaram expressão para PTPRN2 em suas células normais.

Diante do resultado, surge o questionamento: O tumor estaria influenciando ou modulando a presença de PTPRN2 nas células normais do tecido adjacente? Ou essas células já estariam expressando essa proteína por si mesmas? Embora esse achado possa sugerir uma possível influência do tumor nas células não malignas, ainda não se sabe quais mecanismos podem estar envolvidos. Portanto, estudos experimentais adicionais são necessários para esclarecer essa relação e definir seu impacto na progressão tumoral, embora estudos atuais trazem em suas discussões a cancerização por campo abrangendo o tecido peritumoral como um espaço alterado influenciando no fenótipo da neoplasia (Gadaleta *et al.*, 2022). Como por exemplo, um grupo asiático que trabalhou observando a heterogeneidade estromal, e percebeu que o grupo com estroma enriquecido de tecido adiposo era mais pró-inflamatório, sendo este associado com uma diminuição pujante da sobrevida global das pacientes em contraste ao tecido enriquecido com miofibroblastos. E esses dados sugerem um determinante papel do tecido peritumoral na evolução e tratamento do câncer de mama (Lau *et al.*, 2023).

Ao passar para a avaliação dos grupos CIM e CANI, os dados demográficos indicam que os carcinomas inflamatórios e não inflamatórios possuem semelhantes características clínico-patológicas, indicando o estágio avançado desses tumores. Dessa

forma, notou-se que a idade média das pacientes foi de 57 anos, podendo ser observado discrepância com estudo que revela predomínio de tumores avançados como CIM em indivíduos com menor faixa etária (Anderson *et al.*, 2003). Embora a idade de diagnóstico mais avançada seja encarada como um empecilho nas respostas ao tratamento, Anderson e colaboradores (2003) exibiram mulheres mais jovens ao diagnóstico de CIM com pior grau tumoral, com piores taxas de resposta patológica completa, prognóstico e taxas de sobrevida quando comparado ao grupo de carcinoma não inflamatório avançado.

Na questão racial, a maioria das pacientes se autodeclarou parda em ambos os grupos, sendo 83% para pacientes com CIM e 87,5% para CANI. Esse fato, portanto, pode ter influência no estadiamento clínico avançado e na sobrevida dessas pacientes, ratificando com dados já publicados que revelaram câncer de mama clinicamente mais avançado em mulheres negras e pardas em comparação com as brancas (Rodrigues *et al.*, 2021). Com relação ao histórico familiar, menos da metade (45%) dos membros familiares das pacientes com CIM apresentaram algum câncer durante a vida. Sobretudo, a maior parte (62,5%) foi de parentes diagnosticados com câncer de mama ou de ovário, o que contrasta com dados da literatura que sugerem apenas 5 a 10% de acometimento de neoplasias associada à hereditariedade e os outros 90% a diferentes fatores (INCA, 2022; Dantas *et al.*, 2009). Entretanto, ao ocorrer casos de câncer em parentes próximos, o indivíduo pertencente à família pode apresentar risco elevado de desenvolver lesões ao longo da vida, sendo necessário fazer um mapeamento ou aconselhamento genético para conhecer ou descartar a predisposição, como a chance de mutação em genes associados ao aparecimento de neoplasias (Dantas *et al.*, 2009).

Na análise do Índice de Massa Corporal (IMC), os pacientes com diagnóstico de CIM apresentaram um maior número de pacientes (72%) com sobrepeso ou obesidade (entre 25 e 30 kg/m²), sendo um pouco maior que nos pacientes com CANI (69%). Esses achados corroboram o estudo que identificou pacientes com maiores níveis de IMC mais propensos ao desenvolvimento de CIM, devido às alterações do tecido adiposo e maior disponibilidade energética para implementação e progressão tumoral (Eldridge *et al.*, 2020). Estudos já vem comprovando a obesidade como um fator de risco aumentado de câncer por desencadear alterações metabólicas e sistêmicas, como inflamação com infiltração imunológica alterada com desregulação de liberação hormonal (adipocinas, citocinas, leptinas), disbiose, resistência a insulina, resposta imune prejudicada (Font-Burgada; Sun; Karin, 2016). Nosso grupo de pesquisa já vem abordando o eixo obesidade-câncer, e um dos trabalhos abordou o aumento dos níveis de resistina influenciando na resposta e resistência à quimioterapia neoadjuvante em pacientes com câncer de mama (Freitas, 2024). Além disso, outra constatação sobre as

pacientes do estudo e seu IMC, leva em consideração ao subtipo molecular do tumor, pois, todas as pacientes eutróficas apresentavam tumores luminais, que são conhecidos por serem menos agressivos, enquanto as com sobrepeso/obesidade apresentavam tumores triplo negativo e HER2 amplificado, conhecidos por sua rápida evolução e aumento da resistência a resposta ao tratamento oncológico. Interessante observar esse fato, uma vez que um IMC elevado conduz e se associa a um parênquima mamário com inflamação crônica com potencial contributivo para o processo neoplásico (Rocha Filho, 2017).

Com relação ao acometimento linfonodal, nas pacientes com CIM com N2 obteve sozinho metade da frequência (50%), seguido do N1 (28%), do N3 (16%) e do N0 linfonodos comprometidos (6%). Em contrapartida, o grupo CANI apresentou maior incidência de mulheres no N1 (50%) de comprometimento linfonodal, seguido do N2 (25%), N3 (19%) e ausência de linfonodos comprometidos (N0) (6%). O que ratifica com dados publicados na literatura afirmando que pacientes com carcinoma inflamatório possuem maior tendência a apresentarem linfonodos comprometidos levando a uma maior progressão da doença quando negligenciados (Walshe; Swain, 2005; Amparo *et al.*, 2000).

Setenta e oito por cento (78%) das pacientes com carcinoma inflamatório apresentaram índice de proliferação celular (Ki-67) elevado, enquanto apenas 56% das pacientes do grupo não inflamatório apresentaram Ki-67 elevado. Tal resultado é indicador de que uma fração relevante de pacientes apresentou alto potencial proliferativo celular. Sendo essa proteína (Ki-67) presente no núcleo das células uma variável clínico-patológica extremamente importante como biomarcador para identificação de tumores com pujante agressividade (Cheang *et al.*, 2009). Em adição, Ki-67 é muito usado como fator prognóstico, uma vez que pacientes com Ki-67 elevado tendem a apresentar uma pior sobrevida (Trihia *et al.*, 2003) e embora ainda não seja um guia para a escolha do tratamento, ele é investigado para diferenciar os subtipos moleculares luminal A e luminal B (Cheang *et al.*, 2009).

Ao que diz respeito à disseminação tumoral, ambos os grupos apresentaram positividade para metástase à distância, sendo no grupo CIM em mais de 70% das pacientes e no grupo CANI foi 50%. O que era previsível, uma vez que ambas são doenças em estágio tumoral avançado e de difícil tratamento, sobretudo o CIM, que é extremamente agressivo e célere em sua evolução (Charafe-Jauffret *et al.*, 2008). Visto seu duvidoso diagnóstico e demora na escolha do manejo, sua detecção pelos oncologistas frequentemente ocorre em estágios irreversíveis, quando o tumor já está em intensa progressão e com possível resistência a regimes quimioterápicos (Di Bonito *et al.*, 2019).

Na avaliação do *status* atual das pacientes, a maioria da amostra foi a óbito e a

outra parte segue em *follow up* no mesmo hospital de referência do câncer. O que também corrobora com dados da literatura, cujos achados permitem afirmar que as pacientes com tumores avançados não conseguem alcançar a remissão completa e seguem em tratamento até a morte, sobretudo no carcinoma inflamatório, que tem como propriedade intrínseca a agressividade e célere progressão (Fouad *et al.*, 2018).

Ao observar os resultados de PTPRN2 no tumor primário do carcinoma inflamatório e não inflamatório, não foi possível constatar um padrão de alta frequência de escores 1, 2 e 3 entre os grupos ($p=0,722$), porém no grupo CANI foram descritas duas amostras com forte intensidade para PTPRN2. Já no grupo CIM, não foi observado escore 3 e muitas amostras de tumor primário foram ausente de coloração, podendo levantar outro questionamento: Será que essa proteína estaria sendo silenciada ao longo do curso patológico doenças mais avançadas?

Ademais, na associação de PTPRN2 com fatores clínico-patológico também não foi possível estabelecer perfil de significância. A resposta para esses resultados ainda precisa ser esclarecida, pois pouco se sabe sobre sua função e seu padrão de expressão, apenas que nos cânceres com os quais foi estudada, a epigenética está influenciando em sua presença e atividade (Wang *et al.*, 2023). Sobretudo, nesse estudo ainda não podemos determinar respostas envolvendo a epigenética, apenas sugerir, pois não fizemos testes envolvendo essa temática. Estudos futuros do grupo visam a responder esses questionamentos.

Na avaliação do dado pelo histoescore, a faixa de pontuação de 0 a 210 para classificação entre alta e baixa expressão de PTPRN2 foi definida a partir dos dados gerados pelas nossas amostras, abrangendo o percentual de células marcadas junto ao escore. Sobretudo, não foi possível estabelecer nenhuma significância entre a alta e a baixa expressão proteica na comparação entre os grupos e nem ao associá-los aos dados clínico-patológicos. No gráfico de histoescores comparando os tumores primários de CIM e CANI também não houve frequência alterada em nenhum grupo, no entanto, fato que chamou atenção foram duas amostras em cada grupo com alta expressão de PTPRN2, sendo essas quatro amostras com subtipo histológico luminal ou HER2, enquanto as amostras de triplo negativo, que são conhecidas por serem mais agressivas e com pior prognóstico (Derakhshan *et al.*, 2022; Zhang, 2023), apresentaram perfil de baixa expressão da mesma proteína. Contudo, a pequena disponibilidade de amostras inferiu na limitação do estudo, assim, a continuação do estudo com maior número de casos será importante para novas análises.

Pelo método de deconvolução de imagens para PTPRN2, observou-se que os dados também entraram em consonância com os resultados advindos do patologista, visto que

não houve diferença significativa de expressão proteica entre as amostras de tumor primário do grupo CIM e CANI, portanto, nenhum grupo alcançou destaque no percentual de área marcada. Além disso, na associação dos dados de deconvolução com os critérios clínico-patológicos, nenhum dado comparativo gerou diferença significativa, mas as amostras de tumor primário com subtipo histológico triplo-negativo no grupo CANI tiveram menor expressão de PTPRN2 ($24,2 \pm 32,7$) quando comparada às amostras de triplo negativo do mesmo grupo ($112,7 \pm 53,9$), gerando um dado quase significativo (p valor: 0,0583). Ainda que os outros tipos histológicos tenham apresentado tendência a um perfil aumentado de PTPRN2, no grupo CIM as amostras triplo negativo apresentaram maior percentual de área marcada ($87,2 \pm 7,0$) que as amostras CANI ($24,2 \pm 32,7$), o que pode evidenciar peculiaridade celular nos diferentes tipos de câncer, uma vez que cada tumor é protagonista da sua doença (Barzaman *et al.*, 2020). No entanto, mais amostras de tumor triplo negativo seriam importantes para melhor determinar esse achado e comparar com as outras metodologias de análise que mostraram resultado contrário para o subtipo TN.

Como forma de avaliação da deconvolução como um método de análise preditivo de resposta terapêutica, os dados foram submetidos à curva ROC, que vai permitir o encontro de um ponto de corte de expressão para, a partir dele, classificar as amostras em alta e baixa expressão proteica. Portanto, o *cut-off* foi determinado (65%) e por meio dele as amostras foram classificadas. Assim, na associação entre a alta e baixa expressão, pacientes do grupo CIM negativas para metástase à distância (M0) revelaram padrão aumentado de PTPRN2 (90,9%) em comparação às pacientes que foram positivas para metástase (9,1%) (p-valor: 0,0474). Esses dados levantam duas perguntas: A PTPRN2 possui um papel protetor no câncer de mama avançado, por estar mais presente em amostras de pacientes que não apresentam um quadro clínico mais grave como a presença de metástase? Ou, a PTPRN2 em pacientes com perfil clínico extremamente grave está sendo silenciada epigeneticamente, favorecendo a progressão da doença, instigando um curso clínico mais agressivo? Ou ainda, é possível que esse dado com significância esteja entrando em consonância a questionamentos e resultados de Sorokin e colaboradores (2015), que afirmam a PTPRN2 com maior e mais importante papel de impacto em tumores iniciais (Sorokin *et al.*, 2015).

No mais, para obtenção de maior acurácia quanto aos resultados da imuno-histoquímica, também foi realizado a técnica de imunofluorescência para PTPRN2 no presente estudo. Há estudo tratando a imunofluorescência como um método mais sensível na detecção de proteínas, com discreta superioridade em comparação à imuno-histoquímica (Schroeder *et al.*, 2009), no entanto, não foi percebido diferença nos resultados de expressão

de PTPRN2 entre os tumores de carcinoma inflamatório e não inflamatório ($p>0,05$), indicando que não existe diferença de expressão entre ambas as classes agressivas de câncer de mama. Os achados conversaram entre si e foram similares, mantendo o padrão de expressão outrora encontrado nas outras formas de análise de dados supracitados. Sobretudo, ao correlacionar os dados de expressão com as variáveis clínicas e patológicas, foi possível observar uma tendência na expressão de PTPRN2 em amostras com linfonodos não comprometidos, o que continua fortalecendo estudos que mencionam a PTPRN2 mais associada a estágios clínicos menos graves (Sorokin *et al.*, 2015).

Infelizmente o tamanho amostral foi pequeno, carreando impactos sobre as análises estatísticas e análises intergrupais mais robustas e acuradas. No entanto, sugere-se que PTPRN2 possa estar sendo silenciada no curso da doença, sofrendo alguma alteração epigenética, sobretudo em pacientes com tumores com perfil de maior agressividade, sendo essa uma alteração genética importante no fenótipo do CIM. Ou ainda, essa proteína pode estar mais envolvida no início da carcinogênese de tumores iniciais, desempenhando um papel inicial importante, enquanto em doenças mais avançadas ela pode estar menos expressa.

Como Sorokin e colaboradores (2015) discutiram baseado em seus resultados, que embora a expressão de PTPRN2 não tenha sido associada a um estágio tumoral específico, ela foi observada em maior quantidade em tumores T1. Porém, mais estudos e testes precisam ser realizados para resultados mais precisos e direcionados, sobretudo fazendo uso de amostras de pacientes com estadiamento T1/T2 para melhor analisar. Além disso, existem poucas publicações na literatura sobre os efeitos biológicos da PTPRN2 na carcinogênese, sobretudo no câncer de mama, o que por um lado dificulta embasar nossos achados e por outro nos possibilita ser o grupo pioneiro a relacionar PTPRN2 e CIM.

Para constatar se a PTPRN2 está mais presente em tumores luminais, outra análise foi gerada. Nesses gráficos, as amostras foram divididas entre seus subtipos moleculares (luminal, HER2 ou triplo negativo) e avaliadas estatisticamente a partir do histoescor, da imunofluorescência e deconvolução de imagens. Entretanto, também não houve diferença estatística ($p>0,05$). Mas, foi observado que há uma tendência das amostras que não são triplo negativo em ambos os grupos, apresentarem maior perfil de expressão de PTPRN2, sobretudo nos tumores luminais. E esse dado está concordando com o trabalho de Sorokin e colaboradores (2015) que observaram um aumento diferencial na intensidade de expressão da isoforma imatura da proteína (proPTPRN2) em tumores com positividade para receptores hormonais estrogênio ($p=0,230$) e progesterona ($p=0,077$).

Nossos dados, no entanto, contrastam com dados de Sengelaub e colaboradores

(2016), o quais demonstram uma expressão aumentada de PTPRN2 no citoplasma e na membrana celular das células neoplásicas vinculada a progressão tumoral e a um pior prognóstico, levando em consideração a maior predisposição a metástase no câncer de mama (Sengelaub *et al.*, 2016), podendo se relacionar a piora no tratamento e na sobrevida. Esses resultados sugerem que o nível de PTPRN2 se associa a um fenótipo de câncer de mama menos favorável por meio do avanço tumoral, indicando a probabilidade de utilizar o estado ativo da PTPRN2 como um novo indicador prognóstico (Du; Grandis, 2015; Sengelaub *et al.*, 2016).

Concomitante a isso, a PTPRN2 tem sido hodiernamente explorada com alterações epigenéticas associada a diferentes tipos de cânceres (Chen; Zhenzhen; Wang *et al.*, 2023), até mesmo no câncer de mama (Sengelaub *et al.*, 2016) estando incluída como um dos genes envolvidos na progressão da doença (Rana *et al.*, 2019) e até mesmo na resistência à terapia (Men *et al.*, 2017). Essas pesquisas com análises de alterações genômicas-epigenéticas no câncer, sobretudo no câncer de mama, possuem relevâncias clínicas reforçadas, dado que a tecnologia tem avançado e levado a medicina personalizada de precisão, com análises integradas de genes se combinando com outros, com regiões genômicas detectadas com defeitos e áreas de metilação influenciando na potencialidade maligna do câncer (Tavares, 2024). Sobretudo, há dados ainda não publicados analisados por bioinformática que observou o mesmo resultado desse trabalho, cuja expressão de PTPRN2 em amostras de CIM e CANI não apresentavam diferença estatística entre elas, fazendo-nos questionar se essa proteína já faz parte do curso clínico de carcinomas mamários avançados e com pior prognóstico.

O mesmo grupo parceiro da UNESP que trabalha com carcinoma inflamatório, ultimamente tem levantado dados dos padrões de metilação do DNA aliados ao desenvolvimento e progressão do CIM (Faldoni *et al.*, 2024), adicionalmente, insinuando que os medicamentos epigenéticos acrescido de imunoterapia combinada podem ser uma alternativa exequível de tratamento para a doença (Calanca *et al.*, 2024). No entanto, em estudos futuros pretende-se envolver a epigenética com a PTPRN2, utilizando essa proteína em associação ao carcinoma inflamatório da mama, tanto pré-clínica, clínica quanto in vitro. Portanto, elucidar o papel de PTPRN2 no carcinoma inflamatório e sua associação a vias de sinalização já abordadas na carcinogênese como Pi3K serão passos futuros que darão continuidade a essa pesquisa heterogênea.

Nosso estudo apresenta algumas limitações, como já mencionado. Uma das dificuldades foi o acesso a poucas amostras de Carcinoma Inflamatório da Mama, que pode

ser respondido pela baixa prevalência de casos. Além disso, muitas pacientes que são acometidas com câncer de mama e são encaminhadas para o Instituto do Câncer do Ceará são pacientes da zona rural, fato que leva ao aumento do número de não seguimento ao tratamento, impossibilitando o acesso a seus materiais biológicos. Portanto, as análises estatísticas foram comprometidas em alguns momentos.

No que se refere às curvas de sobrevida global, o presente estudo observou, mesmo que sem diferença significativa, pacientes com CIM com alta expressão de PTPRN2 apresentando menor sobrevida, enquanto, de forma oposta, pacientes com CANI com baixa expressão de PTPRN2 foram os que exibiram pior prognóstico. Esse achado sugere que a simples detecção da imunexpressão proteica de PTPRN2 não é suficiente para determinar sua funcionalidade biológica, dado que níveis elevados ou inibidos de expressão podem refletir a presença de uma proteína anômala, resultante de mutações ou ativações, que pode exercer diferentes papéis a depender do subtipo clínico-patológico (Prelich, 2012).

Adicionalmente, por se tratar de uma estudo pioneiro e retrospectivo, gera hipóteses e perspectivas futuras para realização de novas pesquisas, até mesmo prospectivas, adotando a presença de um grupo controle sem câncer ou pacientes com tumores luminais iniciais, contemplando mensurações do potencial biomarcador por ELISA, ou ainda fazer comparativo entre a expressão da proteína antes e após a quimioterapia para saber se há alguma influência em sua expressão. Pois nesse estudo não foi possível a inclusão de novos métodos para expressão proteica, tanto pelo curto tempo para realização do projeto e falta de verba para adquirirmos novos kits, como a realização de qPCR a partir de blocos de tumor em parafina, ou o difícil acesso a células de carcinoma inflamatório da mama, atualmente indisponíveis nos bancos de células do Brasil.

No mais, foi possível adicionar uma coorte de pacientes com câncer de mama triplo negativo em estágio inicial para avançarmos na investigação sobre a expressão da PTPRN2, a fim de hipotetizar se ela teria algum envolvimento na modulação da doença em fases menos avançadas. Essa coorte foi escolhida porque era mais interessante trabalhar com pacientes que também apresentavam um tumor biologicamente agressivo com o subtipo triplo negativo, ainda que em estágio clínico menos avançado. Dessa forma, ao submetermos cortes de tumores dessas pacientes a imunohistoquímica, foi observado um aumento significativo da expressão da proteína em comparação aos tumores de pacientes com carcinoma inflamatório da mama ($p < 0,05$). Nossos achados fortalecem os dados de Sorokin e colaboradores 2015, que identificaram maior expressão proteica em pacientes com câncer de mama em estágio inicial, ainda que o papel da PTPRN2 não esteja esclarecido. Adicionalmente, esse achado

reforça a hipótese de PTPRN2 estar sendo silenciada no curso de doenças mais avançadas, e que sua perda pode se associar a um pior prognóstico e mecanismos de escape tumoral.

Partindo para a análise do microambiente tumoral, a expressão da proteína CD68 pela técnica de imunofluorescência nas amostras de carcinoma inflamatório mostrou padrão de elevada infiltração de macrófagos M0 em relação às amostras de carcinoma não inflamatório e em associação aos parâmetros clínico-patológicos ($p < 0,05$). A infiltração de macrófagos no grupo CIM foi significativamente maior ($p < 0,05$) que no grupo CANI, corroborando estudos que envolvem o CIM e o MAT, trazendo a ideia de um ambiente inflamatório bem característico da doença, contendo muitos componentes que influenciam essa peculiaridade, sobretudo os macrófagos (Morrow *et al.*, 2017). Macrófagos participam na promoção da inflamação, agravando a progressão do tumor, visto que são recrutados para o ambiente tumoral como mediadores-chave do processo inflamatório (Boutilier; Elswa, 2021).

Quando os pacientes foram segmentados segundo aos parâmetros clínico-patológicos, uma maior infiltração de macrófagos foi detectada em indivíduos com CIM com expressão amplificada do receptor HER2 ($107,0 \pm 137,5$) *versus* amostras negativas para HER2 no mesmo grupo ($30,9 \pm 44,9$) e em comparação ao grupo CANI, em amostras com ausência ($10,1 \pm 11,5$) e com presença de HER2 ($7,5 \pm 7,7$), essa análise mostrou significância ($p = 0,0394$). Essa diferença significativa fortemente envolvida com tumores HER2 pode estar auxiliando na promoção de um pior prognóstico, uma vez que já foi constatado que esse subtipo molecular pode ser mais agressivo e com maiores chances plausíveis de recidivas no CIM (Afonso *et al.*, 2022; Charafe-Jauffret *et al.*, 2008).

Além disso, amostras com subtipo molecular triplo-negativo se destacaram com maior presença de macrófagos em sua área tumoral. Informações clínicas substanciais demonstram que se no tecido tumoral a concentração de macrófagos, sobretudo macrófagos associados aos tumores, for volumosa, o paciente oncológico apresenta um mau prognóstico (Kerneur, Cano e Olive, 2022), o que corresponde ao caráter inerente do câncer de mama triplo negativo. Esses achados são essenciais, uma vez que possibilita perceber e associar o microambiente tumoral com elevado desempenho na patogenia do CIM, influenciando em seu fenótipo e na resistência terapêutica (Di Bonito *et al.*, 2019). Há uma influência dúbia dos macrófagos no câncer, a depender do microambiente que circunda o tumor, pois, ao mesmo tempo em que ele pode limitar a atividade antitumoral da quimioterapia, em algumas situações pode contribuir para a eficácia terapêutica, como da doxorrubicina (Mantovani *et al.*, 2018).

Quando os macrófagos se comportam a favor do tumor, eles podem apresentar

capacidade imunossupressora, impossibilitando o combate das células T e das células *natural killer* com as células malignas durante o desenvolvimento tumoral (Noy; Pollard, 2014). Ademais, os TAMs têm potencial de secretar citocinas imunossupressoras, como IL-10 e TGF- β , que impossibilita a resposta imunológica antitumoral (Boutillier; ElSawa, 2021). Diferentes pesquisas relacionando os macrófagos com os tumores encontram o mesmo denominador comum que levam a concordância e descrição das funções dessas células imunológicas como impulsionadoras da proliferação, da metástase e da invasão das células cancerígenas (Di Bonito *et al.*, 2019). Os macrófagos associados aos tumores são ainda capazes de liberar fatores de crescimento, intensificando a multiplicação celular e potencializando o crescimento tumoral (Noy; Pollard, 2014). Diante disso, pesquisadores vêm trabalhando os macrófagos associados aos tumores como alvos terapêuticos no estudo ao combate ao câncer, e dentre as abordagens, estratégias para inibir recrutamento e a sobrevivência em tumores e a reeducação funcional do macrófago M2 para M1, ou M0 para M1, podem ser mencionadas (Mantovani *et al.*, 2018). Esse é um avanço significativo, visto que ampliar o arsenal de fármacos que possibilitem eliminar estratégias exitosas de escape das células tumorais é fundamental como terapia adjuvante para complementar os regimes quimioterápicos atuais, que já são bem sucedidos em diferentes contextos clínicos.

Fu e colaboradores (2020) destacaram os macrófagos como estimuladores do processo de angiogênese no tumor aumentando a capacidade do tumor de migrar para outros sítios. Visto que são capazes de liberar fatores pró-angiogênicos, como o VEGF-A (fator de crescimento endotelial vascular A) que funcionam como promotores da formação de novos vasos sanguíneos, uma vez que essa liberação é capaz de favorecer a quimiotaxia de células endoteliais e de mais macrófagos. Assim, dados revelam que em tumores sólidos a hipóxia é uma característica comum, ao mesmo tempo em que macrófagos associados aos tumores também são encontrados em altas concentrações nessas regiões, sugerindo fortemente uma correlação positiva entre ambos (Boutillier; ElSawa, 2021). Contudo, em nosso estudo apenas evidenciamos a infiltração aumentada de macrófagos associados ao microambiente tumoral, sem distinção fenotípica de macrófago M1 (antitumoral) ou macrófago M2 (pró-tumoral).

Na avaliação da expressão da fosfoglicoproteína transmembrana CD34 por imunofluorescência em amostras de tumor primário para observar o comportamento de células endoteliais, também pode ser percebida uma infiltração diferencial no grupo CIM em relação ao grupo CANI e sua relação com as variáveis clínico-patológicas. A análise fenotípica exibiu uma infiltração significativamente aumentada em amostras de CIM,

sobretudo em amostras de carcinoma inflamatório triplo negativo. Quando os pacientes foram estratificados consoante aos parâmetros clínico-patológicos, uma maior infiltração de células endoteliais foi relacionada a indivíduos com CIM com expressão negativa do receptor de estrogênio ($64,1 \pm 88,3$) versus amostras positivas no mesmo grupo ($11,4 \pm 10,3$) e em comparação também ao grupo CANI, em amostras com ausência de receptor de estrogênio ($5,4 \pm 4,5$) e com presença de receptor de estrogênio ($5,5 \pm 5,6$), essa análise exibiu significância ($p=0,0134$).

O mesmo padrão de infiltração de células endoteliais foi encontrado em tumores triplo negativos do grupo CIM ($166,0 \pm 0,0$) quando comparados com CANI ($10,4 \pm 2,1$), esse dado também foi significativo ($p<0,0001$). Portanto, o marcador CD34 se associou positivamente com alta expressão às amostras das pacientes com carcinoma inflamatório com subtipo molecular triplo negativo. Esses resultados são de importância clínica para compreender a patogênese do CIM e abrir a possibilidade de otimizar os resultados terapêuticos com drogas antiangiogênicas focalizadas (Kang *et al.*, 2024). Além disso, já está documentado por meio de evidências clínicas que há uma correlação entre a presença de macrófagos e intensas áreas angiogênicas com diversos microvasos, revelando que os macrófagos também desempenham um papel no processo contra a hipóxia das células tumorais (Leek; Harris, 2002). Ou ainda pela liberação de mediadores angiogênicos e de invasão como o TNF e as interleucinas 6, 8 e 10 (Mohamed *et al.*, 2014).

Os nossos resultados concordam com outros estudos, que ao quantificarem vasos em amostras de CIM e de CANI, McCarthy e colaboradores (2002) notaram um maior aumento de vasos no carcinoma inflamatório. Concomitantemente, foi realizada uma correlação entre o aumento da hipóxia através da anidrase carbônica IX (marcador de hipóxia) e a proliferação endotelial e a superexpressão foi revelada no CIM de ambos em comparação ao câncer não inflamatório (Colpaert *et al.*, 2003). Portanto, utilizar esse biomarcador em amostras de pacientes com carcinoma inflamatório pode ajudar a desvendar sua atividade demasiada como uma das principais potencializadoras de uma angiogênese mais ativa no CIM, levando-o a uma predisposição elevada nas taxas de invasão e metástase.

No CIM, já se tem documentado que o tumor é cercado por progenitores, que se apresentam de tal forma capazes de gerar linfáticos e de invadir uma extensa área linfática já existente, levando a implicações essenciais no manejo da doença (Woodward *et al.*, 2015). Assim, cresceu o número de trabalhos que investigam as contribuições do MAT na patogênese e no curso clínico do CIM (Calanca *et al.*, 2024) e alguns já possuem evidências bem significativas, visto que uma composição diferente e única das células dentro do MAT do

carcinoma inflamatório foi revelada (Shirakawa *et al.*, 2002). Embora essa biologia ainda não tenha sido totalmente desvendada, recentes resultados indicam fortemente que o MAT é o condutor do fenótipo clínico do CIM (Lim *et al.*, 2018).

Assim, a descoberta de macrófagos e células endoteliais como membros do repertório do microambiente tumoral do CIM em elevada infiltração pode despertar uma personalização das estratégias e planejamentos terapêuticos (Calanca *et al.*, 2024). Dessa forma, a marcação de CD68 e CD34 sugerem pior prognóstico no fluxo clínico do CIM, apontando significância desses receptores para a evolução do conhecimento no campo oncológico, como futuros alvos no tratamento personalizado (Bejarano, Jordão e Joyce, 2021), dado que a caracterização de proteínas com maior expressão associadas ao CIM é um caminho relevante no desenvolvimento de terapias que tem como alvo o tumor, aumentando a eficácia terapêutica (Calanca *et al.*, 2024).

De forma complementar, foi realizada a análise da curva de sobrevida global, mas não foi visualizada diferença de taxas de óbito entre os grupos. Entretanto, ao associarmos a expressão das proteínas PTPRN2, CD68 e CD34 com as curvas de sobrevida, encontramos uma associação significativa ($p=0,0457$) entre pacientes com Carcinoma da Mama Triplo Negativo (CMTN) e PTPRN2 em comparação aos demais subtipos moleculares. Embora já seja observada uma menor sobrevida em subtipo TN, mais uma vez esse achado corrobora com a sugestão de silenciamento da expressão de PTPRN2 discutida acima, possivelmente por alterações epigenéticas, pois, ao considerarmos que a proteína tende-se a estar mais expressa nos demais subtipos moleculares, sua ausência ou diminuição no câncer mais agressivo (TN) pode estar refletindo no impacto do prognóstico.

Adicionalmente, ao realizarmos a correlação de Spearman entre as proteínas, constatamos que quanto mais inflamatório e agressivo se torna o microambiente tumoral, com abundância de macrófagos e células endoteliais (correlacionada positivamente), menos a PTPRN2 se expressa no tumor (correlacionada negativamente). Reforçando o que já vemos em dados da literatura sobre a expressão de PTPRN2 condicionada às alterações epigenéticas (Chen; Zhenzhen; Wang *et al.*, 2023).

Mudando de perspectiva, embora o estudo tenha limitações, foi um projeto novo, visto que a proteína PTPRN2 está começando a ganhar visibilidade como potencial biomarcador molecular nos processos biológicos que envolvem a carcinogênese e a biologia tumoral e ainda não tinha sido estudada no carcinoma inflamatório da mama, sendo esse um estudo inovador e de extrema importância no desenvolvimento da compreensão dessa doença agressiva e rara. Assim, levando em consideração fatores epigenéticos e moleculares

diferenciados, podemos sugerir que há aspectos da metilação do DNA influenciando na imunoexpressão e atividade da PTPRN2 na trajetória do CIM. Assim, destaca-se a necessidade de novos estudos envolvendo-a.

A epigenética é um campo que tem sido bastante trabalhado como desenvolvedor de diferentes tipos de neoplasias e atualmente sua grande influência na progressão tumoral, com genes que são silenciados, modificados e que sofrem diferentes mutações dentro do curso das doenças (Radfor, 2018), pode ser utilizada até mesmo no tratamento para a variação individual e específica a resposta medicamentosa (Miranda Furtado *et al.*, 2019; Hogg *et al.*, 2020).

Mas o que torna esses biomarcadores tão interessantes para as doenças? Porque eles são biomoléculas que apontam uma condição biológica, sendo de extrema importância clínica e patológica, sobretudo para doenças que ainda têm sua biologia pouco esclarecida. Há pelo menos oito tipos de biomarcadores moleculares, a saber, biomarcadores de predisposição, rastreamento, diagnóstico, farmacológico, preditivo, prognóstico, monitoramento e recidiva. A busca por biomarcadores moleculares é um tema que tem se expandido bastante nas últimas décadas, pois eles são importantes na análise de risco, rastreio precoce, diagnóstico diferencial, previsão de resposta ao tratamento e observação da progressão da doença (Oliveira; Folgueira, 2015).

Em nosso estudo buscamos biomarcadores prognósticos e farmacológicos, e essa busca por alvos terapêuticos específicos e acionáveis farmacologicamente é indispensável para potencializar resultados oncológicos para o tratamento do carcinoma inflamatório. Nesse cenário, a compreensão das três proteínas trabalhadas no estudo pode validar achados prévios pelo grupo colaborador, fortalecendo dados e abrindo novas perspectivas para um tratamento direcionado ao CIM.

8. CONCLUSÃO

A expressão de PTPRN2 está significativamente mais abundante no tumor primário que no tecido adjacente ao tumor nas pacientes com câncer de mama inflamatório. Na análise entre os carcinomas avançados inflamatório e não inflamatório, não foi possível estabelecer um perfil de expressão diferencial, sugerindo que a PTPRN2 não se comporta de maneira diferente no carcinoma inflamatório. No entanto, sua expressão foi diferencialmente aumentada em casos de tumores não inflamatórios triplo negativo em estágio inicial em relação ao CIM, indicando que PTPRN2 pode exercer papel relevante em estágios menos agressivos de câncer de mama. No que tange à curva de sobrevida associada a expressão de PTPRN2, os pacientes com carcinoma não inflamatório com subtipo molecular triplo negativo apresentaram menor taxa de sobrevida em comparação aos demais subtipos. Além disso, foi possível constatar que há maior infiltração de macrófagos e células endoteliais envolvidos no microambiente tumoral de pacientes com carcinoma inflamatório da mama. Dessa forma, as amostras de pacientes triplo negativos e HER2+ amplificado apresentaram maior infiltração de macrófagos, enquanto tumores com receptor de estrógeno negativo apresentaram abundância de células endoteliais. Ao correlacionarmos as proteínas, constatou-se que PTPRN2 é inversamente proporcional à presença de macrófagos. Por outro lado, a presença de macrófagos é proporcional à presença de células endoteliais no microambiente tumoral.

REFERÊNCIAS

ADESOYE, T. *et al.* Contemporary surgical management of inflammatory breast cancer: a narrative review. **Chinese Clinical Oncology**, v. 10, n. 6, p. 57, 2021. DOI 10.21037/cco-21-113. Disponível em: <https://cco.amegroups.org/article/view/86361/html>. Acesso em: 20 abr. 2025.

AFONSO, N. *et al.* Tratamento do Cancro da Mama HER2-Positivo: Posicionamento de um Painel de Peritos. **Revista Portuguesa de Oncologia**, v. 5, n. 1, 2022. Disponível em: <https://rponcologia.com/index.php/rpo/article/view/44>. Acesso em: 13 set. 2024.

AGUIAR, M. A. N. *et al.* Interleukin-18 (IL-18) is equally expressed in inflammatory breast cancer and noninflammatory locally advanced breast cancer: A possible association with chemotherapy response. **Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology**, v. 14, n. 2, p. e138–e144, 2018. DOI 10.1111/ajco.12722. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ajco.12722>. Acesso em: 20 abr. 2025.

AHMAD, A. *et al.* Epigenetic basis of cancer health disparities: looking beyond genetic differences. **Biochimica et Biophysica Acta. Reviews on Cancer**, v. 1868, n. 1, p. 16–28, 2017. DOI 10.1016/j.bbcan.2017.01.001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304419X17300173?via%3Dihub>. Acesso em: 20 abr. 2025.

ALEXANDER, P. G. *et al.* The relationship between the Glasgow Microenvironment Score and markers of epithelial-mesenchymal transition in TNM II-III colorectal cancer. **Human Pathology**, v. 127, p. 1–11, 2022. DOI 10.1016/j.humpath.2022.05.012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004681772200140X?via%3Dihub>. Acesso em: 20 abr. 2025.

ALLEN, S. G. *et al.* Macrophages Enhance Migration in Inflammatory Breast Cancer Cells via RhoC GTPase Signaling. **Scientific Reports**, v. 6, 39190, 2016. DOI 10.1038/srep39190. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep39190>. Acesso em: 20 abr. 2025.

AMBROSONE, C. B. *et al.* Genome-wide methylation patterns provide insight into differences in breast tumor biology between American women of African and European ancestry. **Oncotarget**, v. 5, n. 1, p. 237–248, 2014. DOI 10.18632/oncotarget.1599. Disponível em: <https://www.oncotarget.com/article/1599/text/>. Acesso em: 20 abr. 2025.

AMPARO, R. S. *et al.* Inflammatory Breast Carcinoma: Pathological or Clinical Entity? **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 64, n. 3, p. 269–273, 2000. DOI 10.1023/a:1026512722789. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1026512722789>. Acesso em: 05 nov. 2024.

ANDERSON, W. F. *et al.* Epidemiology of inflammatory breast cancer (IBC). **Breast Disease**, v. 22, p. 9–23, 2005. DOI 10.3233/bd-2006-22103. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.3233/BD-2006-22103>. Acesso em: 15 abr. 2025.

ANDERSON, W. F.; CHU, K. C.; CHANG, S. Inflammatory breast carcinoma and noninflammatory locally advanced breast carcinoma: distinct clinicopathologic entities?. **Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 21, n. 12, p. 2254–2259, 2003. DOI 10.1200/JCO.2003.07.082. Disponível em: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2003.07.082>. Acesso em: 20 abr. 2025.

APPELBERG, R. As células Fagocíticas. In: AVEVEDO, C. *Biologia Celular e Molecular*. Lisboa: LIDEL, p. 491–502, 2005.

ARAS, S.; ZAIDI, M. R. TAMEless traitors: macrophages in cancer progression and metastasis. **British Journal of Cancer**, v. 117, n. 11, p. 1583–1591, 2017. DOI 10.1038/bjc.2017.356. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/bjc2017356>. Acesso em: 20 abr. 2025.

ARNETH, B. Tumor Microenvironment. **Medicina (Kaunas, Lithuania)**, v. 56, n. 1, p. 15, 2019. DOI 10.3390/medicina56010015. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1648-9144/56/1/15>. Acesso em: 15 abr. 2025.

ASAHARA, T. *et al.* Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. **Science (New York, N.Y.)**, v. 275, n. 5302, p. 964–967, 1997. DOI 10.1126/science.275.5302.964. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.275.5302.964>. Acesso em: 20 abr. 2025.

ASSELAIN B *et al.* Long-term outcomes for neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy in early breast cancer: meta-analysis of individual patient data from ten randomised trials. **The Lancet Oncology**, v. 19, n. 1, p. 27 - 39, 2018. DOI 10.1016/S1470-2045(17)30777-5. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045\(17\)30777-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(17)30777-5/fulltext). Acesso em: 11 jun. 2025.

BARZAMAN, K. *et al.* Breast cancer: biology, biomarkers, and treatments. **International Immunopharmacology**, v. 84, p. 106535, 2020. DOI 10.1016/j.intimp.2020.106535. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567576920304768?via%3Dihub>. Acesso em: 20 abr. 2025.

BEJARANO, L.; JORDÃO, M. J. C.; JOYCE, J. A. Therapeutic Targeting of the Tumor Microenvironment. **Cancer Discovery**, v. 11, n. 4, p. 933–959, 2021. DOI 10.1158/2159-8290.CD-20-1808. Disponível em:

<https://aacrjournals.org/cancerdiscovery/article-abstract/11/4/933/665833/Therapeutic-Targeting-of-the-Tumor?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 20 abr. 2025.

BEN-DROR, J.; SHALAMOV, M.; SONNENBLICK, A. The history of early breast cancer treatment. **Genes**, v. 13, n. 6, p. 960, 2022. DOI 10.3390/genes13060960.

Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4425/13/6/960>. Acesso em: 20 abr. 2025.

BOUSSEN, H. *et al.* Inflammatory breast cancer in Tunisia. **Cancer**, v. 116, p. 2730–2735, 2010. DOI 10.1002/cncr.25175. Disponível em:

<https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.25175>. Acesso em: 20 abr. 2025.

BOUSSEN, H. *et al.* Inflammatory breast cancer in Tunisia: reassessment of incidence and clinicopathological features. **Seminars in Oncology**, v. 35, n. 1, p. 17–24, 2008. DOI 10.1053/j.seminoncol.2007.11.017. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093775407002424?via%3Dihub>. Acesso em: 20 abr. 2025.

BOUSSEN, H. *et al.* Inflammatory breast cancer: Epidemiologic data and therapeutic results. **International Review of Cell and Molecular Biology**, v. 384, p. 1–23, 2024. DOI 10.1016/bs.ircmb.2023.10.003. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1937644823001612?via%3Dihub>. Acesso em: 15 abr. 2025.

BOUTILIER, A. J.; ELSAWA, S. F. Macrophage Polarization States in the Tumor Microenvironment. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 13, p. 6995, 2021. DOI 10.3390/ijms22136995. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/1422-0067/22/13/6995>. Acesso em: 20 abr. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (CONITEC). *Diretriz Diagnóstica e Terapêutica do Câncer de Mama*. Brasília, DF, 2024. Disponível em:

https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/consultas/relatorios/2024/RRPCDTCncerdeMama_CP.pdf. Acesso em: 3 mar. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Carcinoma de Mama*. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2018. Disponível em:

https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/consultas/relatorios/2018/relatorio_ddt_carcionomademama_julho_2018.pdf. Acesso em: 15 jan. 2025.

BUTTURA, Jaqueline Ramalho. *Avaliação do microambiente tumoral em adenocarcinomas gástricos a partir de dados de expressão gênica*. São Paulo: Fundação Antônio Prudente, 2021. 137 p. Tese (Doutorado) – Curso de Pós-Graduação em Ciências, Área de concentração: Oncologia.

CALANCA, N. *et al.* Inflammatory breast cancer microenvironment repertoire based on DNA methylation data deconvolution reveals actionable targets to enhance the treatment efficacy. *Journal of Translational Medicine*, v. 22, n. 1, p. 735, 2024. Disponível em:

<https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12967-024-05553-5>.

Acesso em 21 jan. 2025.

CAROMILE, L. A. *et al.* The neurosecretory vesicle protein phogrin functions as a phosphatidylinositol phosphatase to regulate insulin secretion. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 14, p. 10487–10496, 2010. DOI 10.1074/jbc.M109.066563. Disponível em:

[https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(20\)74709-5/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(20)74709-5/fulltext). Acesso em: 15 abr. 2025.

CHARAFE-JAUFFRET, E. *et al.* Defining the molecular biology of inflammatory breast cancer. **Seminars in Oncology**, v. 35, n. 1, p. 41–50, 2008. DOI 10.1053/j.seminoncol.2007.11.015. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0093775407002400>. Acesso em: 20 abr. 2025.

CHEN, J.; BAI, Z.; WANG, Y. *et al.* Aberrant expression of PTPRN2 promotes malignant transformation of colorectal cancer cells through EMT/TRAF2/STAT3 signaling pathway. **PREPRINT**, 17 jul. 2023. DOI

10.21203/rs.3.rs-3155307/v1. Disponível em:

<https://www.researchsquare.com/article/rs-3155307/v1>. Acesso em: 20 abr. 2025.

CHIARUGI, P. PTPs versus PTKs: the redox side of the coin. **Free Radical Research**, v. 39, n. 4, p. 353–364, 2005. DOI 10.1080/10715760400027987. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10715760400027987>. Acesso em: 15 abr. 2025.

CHIPPA, V.; BARAZI, H. Inflammatory Breast Cancer. 2023 Apr 16. In: STATPEARLS [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK566497/>. Acesso em: 20 abr. 2025.

CHRISTOFIDES, A. *et al.* The complex role of tumor-infiltrating macrophages. **Nature Immunology**, v. 23, n. 8, p. 1148–1156, 2022. DOI 10.1038/s41590-022-01267-2.

Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41590-022-01267-2>. Acesso em: 20 abr. 2025.

CLARKE, M. F. *et al.* Cancer stem cells—perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells. **Cancer Research**, v. 66, n. 19, p. 9339–9344, 2006. DOI 10.1158/0008-5472.CAN-06-3126. Disponível em:

<https://aacrjournals.org/cancerres/article/66/19/9339/526128/Cancer-Stem-Cells-Perspectives-on-Current-Status>. Acesso em: 20 abr. 2025.

COLPAERT, C. G. *et al.* The presence of a fibrotic focus in invasive breast carcinoma correlates with the expression of carbonic anhydrase IX and is a marker of hypoxia and poor prognosis. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 81, n. 2, p. 137–147, 2003.

DOI 10.1023/A:1025702330207. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1023/A:1025702330207>. Acesso em: 20 abr. 2025.

CONDEELIS, J.; POLLARD, J. W. Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis. **Cell**, v. 124, n. 2, p. 263–266, 2006. DOI

10.1016/j.cell.2006.01.007. Disponível em:

[https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(06\)00055-9?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867406000559%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(06)00055-9?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867406000559%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 20 abr. 2025.

CONTESSO, G. *et al.* The importance of histologic grade in long-term prognosis of breast cancer: a study of 1,010 patients, uniformly treated at the Institut Gustave-Roussy.

Journal of Clinical Oncology, v. 5, n. 9, p. 1378-1386, 1987. DOI:

10.1200/JCO.1987.5.9.1378. Disponível em:

https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.1987.5.9.1378?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%20%20pubmed. Acesso em: 08 set. 2024.

CRISTOFANILLI, M. *et al.* Inflammatory breast cancer (IBC) and patterns of recurrence: understanding the biology of a unique disease. **Cancer**, v. 110, n. 7, p. 1436–1444, 2007.

DOI 10.1002/cncr.22927. Disponível em:

<https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.22927>. Acesso em: 20 abr. 2025.

CROWE, A. R.; YUE, W. Semi-quantitative Determination of Protein Expression using Immunohistochemistry Staining and Analysis: An Integrated Protocol. **Bio-protocol**, v. 9, n. 24, e3465, 2019. DOI 10.21769/BioProtoc.3465. Disponível em:

<https://bio-protocol.org/en/bpdetail?id=3465&type=0>. Acesso em: 20 abr. 2025.

DANTAS, E. L. R. *et al.* Genética do Câncer Hereditário. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 55, n. 3, p. 263–269, 2009. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/349609399_Genetica_do_Cancer_Hereditario. Acesso em: 12 abr. 2025.

DAWOOD, S. *et al.* International expert panel on inflammatory breast cancer: consensus statement for standardized diagnosis and treatment. **Annals of Oncology**, v. 22, n. 3, p. 515–523, 2011. DOI 10.1093/annonc/mdq345. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0923753419385965>. Acesso em: 20 abr. 2025.

DE VISSER, K. E.; JOYCE, J. A. The evolving tumor microenvironment: From cancer initiation to metastatic outgrowth. **Cancer Cell**, v. 41, n. 3, p. 374–403, 2023. DOI

10.1016/j.ccell.2023.02.016. Disponível em:

[https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108\(23\)00044-2?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1535610823000442%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108(23)00044-2?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1535610823000442%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 15 abr. 2025.

DEBATIN, K. M.; WEI, J.; BELTINGER, C. Endothelial progenitor cells for cancer gene therapy. **Gene Therapy**, v. 15, n. 10, p. 780–786, 2008. DOI 10.1038/gt.2008.36. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/gt200836>. Acesso em: 20 abr. 2025.

DEKKER, Y. *et al.* Crosstalk between hypoxia and extracellular matrix in the tumor microenvironment in breast cancer. **Genes**, v. 13, n. 9, p. 1585, 2022. DOI 10.3390/genes13091585. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4425/13/9/1585>. Acesso em: 20 abr. 2025.

DERAKHSHAN, F.; REIS-FILHO, J. S. Pathogenesis of triple-negative breast cancer. **Annual Review of Pathology**, v. 17, p. 181–204, 2022. DOI 10.1146/annurev-pathol-042420-093238. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-pathol-042420-093238>. Acesso em: 20 abr. 2025.

DERAKHSHAN, F.; REIS-FILHO, J. S. Pathogenesis of Triple-Negative Breast Cancer. **Annual Review of Pathology**, v. 17, p. 181–204, 2022. DOI 10.1146/annurev-pathol-042420-093238. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-pathol-042420-093238>. Acesso em: 20 abr. 2025.

DEVI, G. R. *et al.* Perspectives on Inflammatory Breast Cancer (IBC) Research, Clinical Management and Community Engagement from the Duke IBC Consortium. **Journal of Cancer**, v. 10, n. 15, p. 3344–3351, 2019. DOI 10.7150/jca.31176. Disponível em: <https://www.jcancer.org/v10p3344.htm>. Acesso em: 20 abr. 2025.

DI BONITO, M.; CANTILE, M.; BOTTI, G. Características patológicas e moleculares do câncer de mama inflamatório. **Pesquisa Translacional do Câncer**, v. 8, Suppl. 5, p. S449–S456, 2019. DOI 10.21037/tcr.2019.03.24. Disponível em: <https://tcr.amegroups.org/article/view/28003/22777>. Acesso em: 15 abr. 2025.

DOAK, G. R.; SCHWERTFEGER, K. L.; WOOD, D. K. Distant Relations: Macrophage Functions in the Metastatic Niche. **Trends in Cancer**, v. 4, n. 6, p. 445–459, 2018. DOI 10.1016/j.trecan.2018.03.011. Disponível em: [https://www.cell.com/trends/cancer/abstract/S2405-8033\(18\)30089-X?_returnURL=http%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS240580331830089X%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/cancer/abstract/S2405-8033(18)30089-X?_returnURL=http%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS240580331830089X%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 20 abr. 2025.

DU, Y.; GRANDIS, J. R. Receptor-type protein tyrosine phosphatases in cancer. **Chinese Journal of Cancer**, v. 34, n. 2, p. 61–69, 2015. DOI 10.1002/prm2.12090. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/prm2.12090>. Acesso em: 15 abr. 2025.

ELDRIDGE, R. C. *et al.* Endogenous estradiol and inflammation biomarkers: potential interacting mechanisms of obesity-related disease. **Cancer Causes & Control**, v. 31, n. 4, p. 309–320, 2020. DOI 10.1007/s10552-020-01280-6. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s10552-020-01280-6>. Acesso em: 15 abr. 2025.

EMADI, A., JONES, R. & BRODSKY, R. Cyclophosphamide and cancer: golden 12 ESTELLER, M. Cancer epigenetics for the 21st century: what's next? **Genes & Cancer**, v. 2, n. 6, p. 604–606, 2011. DOI 10.1177/1947601911423096. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/1947601911423096>. Acesso em: 20 abr. 2025.

FALDONI, F. L. C.; RAINHO, C. A.; ROGATTO, S. R. Epigenetics in inflammatory breast cancer: biological features and therapeutic perspectives. **Cells**, v. 9, n. 5, p. 1164, 2020. DOI 10.3390/cells9051164. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4409/9/5/1164>. Acesso em: 20 abr. 2025.

FALDONI, F. L. C. et al. DNA methylation profile of inflammatory breast cancer and its impact on prognosis and outcome. **Clinical epigenetics**, v. 16, n. 1, p. 89, 2024. <https://doi.org/10.1186/s13148-024-01695-x>. Disponível em: <https://clinicalepigeneticsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13148-024-01695-x#citeas>. Acesso em: 20 abr. 2025.

FEBRONIO, E. M. *Análise farmacocinética pela Ressonância magnética (RM) para detecção de hipóxia tumoral em neoplasia de próstata*. 2023. 73 p. Tese (Doutorado em Medicina) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2024.

FEINBERG, A. P. Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease. **Nature**, v. 447, n. 7143, p. 433–440, 2007. DOI 10.1038/nature05919. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature05919>. Acesso em: 20 abr. 2025.

FEINBERG, A. P.; LEVCHENKO, A. Epigenetics as a mediator of plasticity in cancer. **Science (New York, N.Y.)**, v. 379, n. 6632, 2023. DOI 10.1126/science.aaw3835. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aaw3835>. Acesso em: 20 abr. 2025.

FISUSI, F. A., & AKALA, E. O. Drug Combinations in Breast Cancer Therapy. **Pharmaceutical nanotechnology**, v. 7, n. 1, p. 3–23, 2019. DOI 10.2174/2211738507666190122111224. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6691849/>. Acesso em: 11 jun. 2025.

FOUAD, T. M. *et al.* Distinct epidemiological profiles associated with inflammatory breast cancer (IBC): a comprehensive analysis of the IBC registry at The University of Texas MD Anderson Cancer Center. **PloS One**, v. 13, n. 9, e0204372, 2018. DOI 10.1371/journal.pone.0204372. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0204372>.

FOUAD, T. M. *et al.* Inflammatory breast cancer: a proposed conceptual shift in the UICC-AJCC TNM staging system. **The Lancet. Oncology**, v. 18, n. 4, p. e228–e232,

2017. DOI 10.1016/S1470-2045(17)30192-4. Disponível em:
[https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045\(17\)30192-4/abstract](https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(17)30192-4/abstract).
 Acesso em: 20 abr. 2025.

FONT-BURGADA, J.; SUN, B.; KARIN, M. Obesity and Cancer: The Oil that Feeds the Flame. **Cell metabolism**, v. 23, n. 1, p. 48–62, 2016. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.12.015. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.12.015>. Acesso em: 20 abr. 2025.

FREITAS, Gisely de Lima. *Associação entre o perfil antropométrico, adipocitocinas e a resposta ao tratamento neoadjuvante de pacientes com diagnóstico primário de câncer de mama*. 2024. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2024. Disponível em:
<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/76171>. Acesso em: 16 abr. 2024.

FREITAS, Vanessa Moraes. *Componentes do microambiente tumoral influenciando células tumorais e não tumorais*. 2019. Tese (Livre-Docência) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019. Acesso em: 20 out. 2024.

FU, L. Q. *et al.* The roles of tumor-associated macrophages in tumor angiogenesis and metastasis. **Cellular Immunology**, v. 353, p. 104119, 2020. DOI 10.1016/j.cellimm.2020.104119. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0008874920300630?via%3Dihub>.
 Acesso em: 20 abr. 2025.

FUGITA, R. M. I.; GUALDA, D. M. R. A causalidade do câncer de mama à luz do Modelo de Crenças em Saúde. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 40, p. 501–506, 2006. Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/reeusp/a/vmHfmqjvVt8PHJB4rLKkbPj/>. Acesso em: 20 jan. 2025.

GAJEWSKI, T. F.; SCHREIBER, H.; FU, Y. X. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. **Nature Immunology**, v. 14, p. 1014–1022, 2013.

GIULIANO, A. E. *et al.* Breast cancer—major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 67, n. 4, p. 290–303, 2017. DOI 10.3322/caac.21393. Disponível em:
<https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21393>. Acesso em: 20 abr. 2025.

GORDON, S. Alternative activation of macrophages. *Nature Reviews Immunology*, v. 3, n. 1, p. 23–35, 2003. DOI 10.1038/nri978. Disponível em:
<https://www.nature.com/articles/nri978>. Acesso em: 20 abr. 2025.

GULINO, G. M. *et al.* From FISH to Hi-C: The Chromatin Architecture of the Chromosomal Region 7q36.3, Frequently Rearranged in Leukemic Cells, Is Evolutionary Conserved. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 5, 2021. DOI:

10.3390/ijms22052338. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/1422-0067/22/5/2338>. Acesso em: 02 fev. 2025

HANAHAN, D.; COUSSENS, L. M. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. **Cancer Cell**, v. 21, n. 3, p. 309–322, 2012. DOI

10.1016/j.ccr.2012.02.022. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1535610812000827>. Acesso em: 15 abr. 2025.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The hallmarks of cancer. **Cell**, v. 100, n. 1, p. 57–70, 2000. DOI 10.1016/s0092-8674(00)81683-9. Disponível em:

[https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(00\)81683-9?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867400816839%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(00)81683-9?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867400816839%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 15 abr. 2025.

HANCE, K. W. *et al.* Trends in inflammatory breast carcinoma incidence and survival: the surveillance, epidemiology, and end results program at the National Cancer Institute.

Journal of the National Cancer Institute, v. 97, n. 13, p. 966–975, 2005. DOI

10.1093/jnci/dji172. Disponível em:

https://academic.oup.com/jnci/article-abstract/97/13/966/2521258?redirectedFrom=fullt_ext.

Acesso em: 20 abr. 2025.

HASSANPOUR, M. *et al.* CD34 positive cells as endothelial progenitor cells in biology and medicine. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 11, 1128134, 2023.

DOI 10.3389/fcell.2023.1128134. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/cell-and-developmental-biology/articles/10.3389/fcell.2023.1128134/full>. Acesso em: 20 abr. 2025.

HE, L. *et al.* The prognosis comparison of different molecular subtypes of breast tumors after radiotherapy and the intrinsic reasons for their distinct radiosensitivity. **Cancer Management and Research**, v. 11, p. 5765–5775, 2019. DOI 10.2147/CMAR.S213663.

Disponível em:

<https://www.dovepress.com/the-prognosis-comparison-of-different-molecular-subtypes-of-breast-tum-peer-reviewed-fulltext-article-CMAR>. Acesso em: 20 abr. 2025.

HOGG, S. J. *et al.* Targeting the epigenetic regulation of antitumour immunity. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 19, n. 11, p. 776–800, 2020. DOI 10.1038/s41573-020-0077-5.

Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41573-020-0077-5>. Acesso em: 15 abr. 2025.

HORNBERG, J. J. *et al.* Principles behind the multifarious control of signal transduction. ERK phosphorylation and kinase/phosphatase control. **The FEBS Journal**, v. 272, n. 1, p. 244–258, 2005. DOI 10.1111/j.1432-1033.2004.04404.x.

Disponível em:

<https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1432-1033.2004.04404.x>. Acesso em: 15 abr. 2025.

ILANGO, S. *et al.* Epigenetic alterations in cancer. **Frontiers in Bioscience (Landmark edition)**, v. 25, n. 6, p. 1058–1109, 2020. DOI 10.2741/4847. Disponível em: <https://www.imrpess.com/journal/FBL/25/6/10.2741/4847>. Acesso em: 20 abr. 2025.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. *Estimativa 2023: incidência do câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: INCA, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/estimativa>. Acesso em: 5 jul. 2024.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. *Cancer fact sheets: [tipo de câncer]*. GLOBOCAN 2022: cancer today. IARC, 2022. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers>. Acesso em: 25 jan. 2025.

JAGSI, R. *et al.* Inflammatory breast cancer defined: proposed common diagnostic criteria to guide treatment and research. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 192, n. 2, p. 235–243, 2022. DOI 10.1007/s10549-021-06434-x. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10549-021-06434-x>. Acesso em: 20 abr. 2025.

JING CHEN, ZHENZHEN BAI, YUE WANG *et al.* Aberrant expression of PTPRN2 promotes malignant transformation of colorectal cancer cells through EMT/TRAF2/STAT3 signaling pathway. **Research Square**. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3155307/v1>. Disponível em: <https://assets-eu.researchsquare.com/files/rs-3155307/v1/771ab0ac-668c-4875-b7e3-dd06cf237e42.pdf?c=1689603913>. Acesso em: 20 abr. 2025.

KALAVSKA, K. *et al.* Prognostic role of matrix metalloproteinase 9 in early breast cancer. **Oncology Letters**, v. 21, n. 2, p. 78, 2021. DOI 10.3892/ol.2020.12339. Disponível em: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2020.12339>. Acesso em: 20 abr. 2025.

KARAR, J.; MAITY, A. PI3K/AKT/mTOR Pathway in Angiogenesis. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 4, p. 51, 2011. DOI 10.3389/fnmol.2011.00051. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/molecular-neuroscience/articles/10.3389/fnmol.2011.00051/full>. Acesso em: 20 abr. 2025.

KASHYAP, D. *et al.* Global increase in breast cancer incidence: risk factors and preventive measures. **BioMed Research International**, v. 2022, p. 9605439, 2022. DOI 10.1155/2022/9605439. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2022/9605439>. Acesso em: 20 abr. 2025.

KATIE, M. O. *et al.* Intrinsic breast tumor subtypes, race, and long-term survival in the Carolina Breast Cancer Study. **Clinical Cancer Research**, v. 16, n. 24, p. 6100–6110, 2010. DOI 10.1158/1078-0432.CCR-10-1533. Disponível em:

<https://aacrjournals.org/clincancerres/article/16/24/6100/75628/Intrinsic-Breast-Tumor-Subtypes-Race-and-Long-Term>. Acesso em: 20 abr. 2025.

KATZUNG, B. G. & TREVOR, A. J. Farmacologia básica e clínica. 13^a ed. Porto Alegre: AMGH, 2017.

KERNEUR, C.; CANO, C. E.; OLIVE, D. Major pathways involved in macrophage polarization in cancer. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 1026954, 2022. DOI 10.3389/fimmu.2022.1026954. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2022.1026954/full>. Acesso em: 20 abr. 2025.

KING, S. E.; SKINNER, M. K. Epigenetic Transgenerational Inheritance of Obesity Susceptibility. **Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM**, v. 31, n. 7, p. 478–494, 2020. DOI 10.1016/j.tem.2020.02.009. Disponível em:

[https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(10\)00060-7?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867410000607%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(10)00060-7?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867410000607%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 15 abr. 2025.

KOCHMANSKI, J.; KUHN, N. C.; BERNSTEIN, A. I. Parkinson's disease-associated, sex-specific changes in DNA methylation at PARK7 (DJ-1), SLC17A6 (VGLUT2), PTPRN2 (IA-2 β), and NR4A2 (NURR1) in cortical neurons. **NPJ Parkinson's Disease**, v. 8, n. 1, p. 120, 2022. DOI 10.1038/s41531-022-00355-2. Disponível em:

<https://www.nature.com/articles/s41531-022-00355-2>. Acesso em: 15 abr. 2025.

KUBOTA, L. E. *et al.* Carcinoma inflamatório de mama – uma abordagem comparada. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 19, n. 3, 2016.

Disponível em: <https://doi.org/10.25110/arqvet.v19i3.6094>. Acesso em: 20 abr. 2025.

LAU, H.S.H., Tan, V.K.M., Tan, B.K.T. *et al.* Adipose-enriched peri-tumoral stroma, in contrast to myofibroblast-enriched stroma, prognosticates poorer survival in breast cancers. **npj Breast Cancer**, v. 9, p. 84, 2023. Disponível em:

<https://doi.org/10.1038/s41523-023-00590-7>. Acesso em: 04 mai. 2025.

LEE, S. The association of genetically controlled CpG methylation (cg158269415) of protein tyrosine phosphatase, receptor type N2 (PTPRN2) with childhood obesity.

Scientific Reports, v. 9, n. 1, p. 4855, 2019. DOI 10.1038/s41598-019-40486-w.

Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-40486-w>. Acesso em: 15 abr. 2025.

LEEK, R. D.; HARRIS, A. L. Tumor-associated macrophages in breast cancer. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 7, n. 2, p. 177–189, 2002. DOI

- 10.1023/a:1020304003704. Disponível em:
<https://link.springer.com/article/10.1023/A:1020304003704>. Acesso em: 20 abr. 2025.
- LEVINE, P. H.; VENEROSO, C. C. Recent advances in the epidemiology of inflammatory breast cancer. **Breast Disease**, v. 40, n. 3, p. 133–142, 2021. DOI 10.3233/BD-210014. Disponível em:
<https://journals.sagepub.com/doi/full/10.3233/BD-210014>. Acesso em: 20 abr. 2025.
- LEVINE, P. H.; VENEROSO, C. The epidemiology of inflammatory breast cancer. **Seminars in Oncology**, v. 35, n. 1, p. 11–16, 2008. DOI 10.1053/j.seminoncol.2007.11.018. Disponível em:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0093775407002436>. Acesso em: 20 abr. 2025.
- LIM, B. *et al.* Author Correction: Inflammatory breast cancer biology: the tumour microenvironment is key. **Nature Reviews. Cancer**, v. 18, n. 8, p. 526, 2018. DOI 10.1038/s41568-018-0022-7. Disponível em:
<https://www.nature.com/articles/s41568-018-0022-7>. Acesso em: 20 abr. 2025.
- LIM, B. *et al.* Inflammatory breast cancer biology: the tumour microenvironment is key. **Nature Reviews Cancer**, v. 18, n. 8, p. 485–499, 2018. DOI 10.1038/s41568-018-0010-y. Disponível em:
<https://www.nature.com/articles/s41568-018-0010-y>. Acesso em: 20 abr. 2025.
- LV, Zhengyuan *et al.* The role of receptor-type protein tyrosine phosphatases in cancer. **Precision Medical Sciences**, v. 12, n. 1, p. 48–57, 2023. DOI 10.1002/prm2.12090. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/prm2.12090>. Acesso em: 15 abr. 2025.
- MAGISTRELLI, G.; TOMA, S.; ISACCHI, A. Substitution of two variant residues in the protein tyrosine phosphatase-like PTP35/IA-2 sequence reconstitutes catalytic activity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 227, n. 2, p. 581–588, 1996. DOI 10.1006/bbrc.1996.1549. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X96915491?via%3Dihub>. Acesso em: 15 abr. 2025.
- MANTOVANI, A. *et al.* Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 14, n. 7, p. 399–416, 2017. DOI 10.1038/nrclinonc.2016.217. Disponível em:
<https://www.nature.com/articles/nrclinonc.2016.217>. Acesso em: 20 abr. 2025.
- McCARTHY, N. J. *et al.* Microvessel density, expression of estrogen receptor alpha, MIB-1, p53, and c-erbB-2 in inflammatory breast cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 8, n. 12, p. 3857–3862, 2002. Disponível em:
<https://aacrjournals.org/clincancerres/article/8/12/3857/199745/Microvessel-Density-Expression-of-Estrogen>. Acesso em: 04 set. 2024.
- MEHRAJ, U. *et al.* Tumor microenvironment promotes breast cancer chemoresistance.

Cancer Chemotherapy and Pharmacology, v. 87, n. 2, p. 147–158, 2021.

DOI10.1007/s00280-020-04222-w. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00280-020-04222-w>. Acesso em: 20 abr. 2025.

MEN, X. *et al.* Transcriptome profiling identified differentially expressed genes and pathways associated with tamoxifen resistance in human breast cancer. **Oncotarget**, v. 9, n. 3, p. 4074–4089, 2017. DOI 10.18632/oncotarget.23694. Disponível em:

<https://www.oncotarget.com/article/23694/text/>. Acesso em: 15 abr. 2025.

MENTA, A. *et al.* Inflammatory breast cancer: what to know about this unique, aggressive breast cancer. **Surgical Clinics of North America**, v. 98, n. 4, p. 787–800, 2018. DOI 10.1016/j.suc.2018.03.009. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039610918300392>. Acesso em: 20 abr. 2025.

MIKALSEN, L. T. *et al.* Quantification of angiogenesis in breast cancer by automated vessel identification in CD34 immunohistochemical sections. **Anticancer Research**, v. 31, n. 12, p. 4053–4060, 2011. Disponível em: <https://ar.iiarjournals.org/content/31/12/4053>. Acesso em 05 nov. 2024.

MIRANDA FURTADO, C. L. *et al.* Epidrugs: targeting epigenetic marks in cancer treatment. **Epigenetics**, v. 14, n. 12, p. 1164–1176, 2019. DOI 10.1080/15592294.2019.1640546.

Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15592294.2019.1640546>. Acesso em: 15 abr. 2025.

MOHAMED, M. M. *et al.* Cytokines secreted by macrophages isolated from tumor microenvironment of inflammatory breast cancer patients possess chemotactic properties.

The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, v. 46, p. 138–147, 2014.

DOI 10.1016/j.biocel.2013.11.015. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1357272513003531?via%3Dihub>. Acesso em: 20 abr. 2025.

MOHAMED, M. M. *et al.* Promoter hypermethylation and suppression of glutathione peroxidase 3 are associated with inflammatory breast carcinogenesis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, p. 787195, 2014. DOI 10.1155/2014/787195.

Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2014/787195> Acesso em: 20 abr. 2025.

MOHAMED, M. M.; AL-RAAWI, D.; SABET, S. F.; EL-SHINAWI, M. Inflammatory breast cancer: New factors contribute to disease etiology: A review. **Journal of Advanced Research**, v. 5, n. 5, p. 525–536, 2014. DOI 10.1016/j.jare.2013.06.004. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123213000830?via%3Dihub>. Acesso em: 20 abr. 2025.

MORROW, Riley J. *et al.* Challenging a Misnomer? The Role of Inflammatory Pathways in Inflammatory Breast Cancer. **Journal of Oncology**, 2017. DOI/10.1155/2017/4754827. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2017/4754827>. Acesso em: 15 abr. 2025.

NEWMAN, L. A.; KALJEE, L. M. Health disparities and triple-negative breast cancer in African American women: a review. **JAMA Surgery**, v. 152, n. 5, p. 485–493, 2017. DOI 10.1001/jamasurg.2017.0005. Disponível em:

<https://jamanetwork.com/journals/jamasurgery/article-abstract/2613703>. Acesso em: 20 abr. 2025.

NEWMAN, L. Oncologic anthropology: global variations in breast cancer risk, biology, and outcome. **Journal of Surgical Oncology**, v. 128, n. 6, p. 959–966, 2023. DOI 10.1002/jso.27459. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jso.27459>. Acesso em: 20 abr. 2025.

NISHIDA, N. *et al.* Angiogenesis in cancer. **Vascular Health and Risk Management**, v. 2, n. 3, p. 213–219, 2006. DOI: 10.2147/vhrm.2006.2.3.213. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1993983/>. Acesso 02 nov. 2024.

NOLAN, E.; LINDEMAN, G. J.; VISVADER, J. E. Deciphering breast cancer: from biology to the clinic. **Cell**, v. 186, n. 8, p. 1708–1728, 2023. DOI 10.1016/j.cell.2023.01.040. Disponível em:

[https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(23\)00099-5?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867423000995%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(23)00099-5?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867423000995%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 20 abr. 2025.

NOY, R.; POLLARD, J. W. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy. **Immunity**, v. 41, n. 1, p. 49–61, 2014. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.06.010. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4137410/>. Acesso em: 15 nov. 2024.

NUNES-XAVIER, C. E. *et al.* The role of protein tyrosine phosphatases in prostate cancer biology. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1866, n. 1, p. 102–113, 2019. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2018.06.016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488918301460?via%3Dihub>. Acesso em: 12 nov. 2024.

OLAWAIYE, A. B. *et al.* The new (Version 9) American Joint Committee on Cancer tumor, node, metastasis staging for cervical cancer. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 4, p. 287–298, 2021. DOI 10.3322/caac.21663. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21663>. Acesso em: 20 abr. 2025.

OLIVEIRA, C. *et al.* Immune-related serious adverse events with immune checkpoint inhibitors: Systematic review and network meta-analysis. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 80, n. 5, p. 677–684, 2024. DOI 10.1007/s00228-024-03647-z.

Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00228-024-03647-z>. Acesso em: 20 abr. 2025. <https://www.nature.com/articles/35021093>

OLIVEIRA, L. B.; FOLGUEIRA, M. A. A. K. Biomarcadores no câncer. In: SAITO, R. F.; LANA, M. V. G.; MEDRANO, R. F. V.; CHAMMAS, R. (Org.). *Fundamentos de oncologia molecular*. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2015. p. 315–327.

ONUCHIC, A. C.; CHAMMAS, R. Câncer e o microambiente tumoral. **Revista de Medicina (São Paulo)**, v. 89, n. 1, p. 21–31, jan./mar. 2010. DOI: 10.11606/issn.1679-9836.v89i1p21-31. Disponível em: <https://revistas.usp.br/revistadc/article/view/46269>. Acesso em: 20 set. 2024.

PAN, Y.; YU, Y.; WANG, X.; ZHANG, T. Tumor-Associated Macrophages in Tumor Immunity. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 583084, 2020. DOI 10.3389/fimmu.2020.583084. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2020.583084/full>. Acesso em: 20 abr. 2025.

PANIAGUA-HERRANZ, L. *et al.* Genomic and Immunologic Correlates in Prostate Cancer with High Expression of KLK2. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 4, p. 2222, 2024. DOI 10.3390/ijms25042222. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/4/2222>. Acesso em: 15 abr. 2025.

PATEL, G.; PRINCE, A.; HARRIES, M. Advanced triple-negative breast cancer. **Seminars in Oncology Nursing**, v. 40, n. 1, p. 151548, 2024. DOI 10.1016/j.soncn.2023.151548. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0749208123002231?via%3Dihub>. Acesso em: 20 abr. 2025.

PEROU, C. M. *et al.* Molecular portraits of human breast tumours. **Nature**, v. 406, n. 6797, 2000. DOI 10.1038/35021093. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/35021093>. Acesso em 11 jun 2025.

POLLARD, J. W. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis. **Nature Reviews Cancer**, v. 4, n. 1, p. 71–78, 2004. DOI 10.1038/nrc1256. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrc1256>. Acesso em: 20 abr. 2025.

PORROCHE-ESCUADERO, A. Problematizando la desinformación en las campañas de concienciación sobre el cáncer de mama. **Gaceta Sanitaria**, v. 31, n. 3, p. 250–252, 2017. DOI 10.1016/j.gaceta.2016.11.003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213911117300043?via%3Dihub>. Acesso em: 20 abr. 2025.

PRELICH, G. Gene overexpression: uses, mechanisms, and interpretation. **Genetics**, v. 190, n. 3, p. 841–854, 2012. DOI 10.1534/genetics.111.136911. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3296252/>. Acesso em: 19 ago. 2025.

PROVENZANO, E.; ULANER, G. A.; CHIN, S. Molecular classification of breast cancer. **PET Clinics**, v. 13, n. 3, p. 325–338, 2018. DOI: 10.1016/j.cpet.2023.04.002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1556859823000342?via%3Dihub>. Acesso em: 18 dez. 2024.

QUAIL, D. F.; JOYCE, J. A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. **Nature Medicine**, v. 19, n. 11, p. 1423–1437, 2013. DOI 10.1038/nm.3394. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nm.3394>. Acesso em: 15 abr. 2025.

QUISPE, Celia Choquenaira. *A doxorubicina e o paclitaxel, usados na quimioterapia neoadjuvante para câncer de mama, ativam receptores toll-like e proteínas de sua sinalização, PI3K e Akt*. 2023. 130 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2023. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/75243>. Acesso em: 12 dez. 2023.

RADFORD, E. J. An Introduction to Epigenetic Mechanisms. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v. 158, p. 29–48, 2018. DOI 10.1016/bs.pmbts.2018.04.002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1877117318300693?via%3Dihub>. Acesso em: 15 abr. 2025.

RADU, P. *et al.* CD34-Structure, Functions and Relationship with Cancer Stem Cells. **Medicina (Kaunas, Lithuania)**, v. 59, n. 5, p. 938, 2023. DOI 10.3390/medicina59050938. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1648-9144/59/5/938>. Acesso em: 20 abr. 2025.

RAHAL, O. M. *et al.* Blocking Interleukin (IL)4- and IL13-Mediated Phosphorylation of STAT6 (Tyr641) Decreases M2 Polarization of Macrophages and Protects Against Macrophage-Mediated Radioresistance of Inflammatory Breast Cancer. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, v. 100, n. 4, p. 1034–1043, 2018. DOI 10.1016/j.ijrobp.2017.11.043. Disponível em: [https://www.redjournal.org/article/S0360-3016\(17\)34169-X/fulltext](https://www.redjournal.org/article/S0360-3016(17)34169-X/fulltext). Acesso em: 20 abr. 2025.

RAKHA, E. A. *et al.* Prognostic significance of Nottingham histologic grade in invasive breast carcinoma. **Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 26, n. 19, p. 3153–3158, 2008. DOI 10.1200/JCO.2007.15.5986. Disponível em: https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2007.15.5986?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed. Acesso em: 07 jul. 2025.

RAKHA, E.; TOSS, M.; QUINN, C. Specific cell differentiation in breast cancer: a basis for histological classification. **Journal of Clinical Pathology**, v. 75, p. 76–84, 2022. DOI: 10.1136/jclinpath-2021-207487. Disponível em:

<https://jcp.bmj.com/content/75/2/76.long>. Acesso em: 08 jan. 2025.

RANA, H. Q.; SACCA, R.; DROGAN, C. *et al.* Prevalence of germline variants in inflammatory breast cancer. **Cancer**, v. 125, p. 2194–2202, 2019. DOI 10.1002/cncr.32062. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.32062>. Acesso em: 20 abr. 2025.

ROBERTSON, F. M. *et al.* Inflammatory breast cancer: the disease, the biology, the treatment. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 60, n. 6, p. 351–375, 2010. DOI 10.3322/caac.20082. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.20082>. Acesso em: 20 abr. 2025.

ROCHA FILHO, Duílio Reis. *Estudo das características clínico-patológicas e do papel da quimiocina CXCL12, dos receptores de quimiocinas CXCR1, CXCR4 e CCR7 e das proteínas PD-L1, fosfo-mTOR e FOXP3 no carcinoma inflamatório de mama, em comparação com carcinomas avançados não-inflamatórios*. 2017. 180 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Fundação Antônio Prudente em Parceria com Escola Cearense de Oncologia, São Paulo, 2017.

RODRIGUES, G. M. *et al.* O câncer de mama e os itinerários terapêuticos: reflexões sobre cuidado e integralidade. **Saúde e Sociedade**, v. 30, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sausoc/a/5tRySBSgn3MJ7SpCwM5cZQx/>. Acesso em: 20 abr. 2025.

ROJAS, K.; STUCKEY, A. Breast cancer epidemiology and risk factors. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 59, n. 4, p. 651–672, dez. 2016. DOI: 10.1097/GRF.0000000000000239. Disponível em: https://journals.lww.com/clinicalobgyn/fulltext/2016/12000/breast_cancer_epidemiology_and_risk_factors.3.aspx. Acesso em: 12 abr. 2025.

ROSEN, P. P. Inflammatory carcinoma. In: ROSEN, P. P. (ed.). **Rosen's breast pathology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. p. 676–683.

ROSS, J. S. *et al.* Comprehensive genomic profiling of inflammatory breast cancer cases reveals a high frequency of clinically relevant genomic alterations. *Breast Cancer Research and Treatment*, v. 154, p. 155–162, 2015. DOI: 10.1007/s10549-015-3592-z. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10549-015-3592-z>. Acesso em: 25 mai. 2025.

SADAGOPAN, N. S. *et al.* A novel BRAF::PTPRN2 fusion in meningioma: a case report. **Acta Neuropathologica Communications**, v. 11, p. 194, 2023. DOI 10.1186/s40478-023-01668-w. Disponível em: <https://actaneurocomms.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40478-023-01668-w>. Acesso em: 15 abr. 2025.

SARHANGI, N. *et al.* Breast cancer in the era of precision medicine. **Molecular Biology Reports**, v. 49, n. 10, p. 10023–10037, 2022. DOI 10.1007/s11033-022-07571-2. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-022-07571-2>. Acesso em: 20 abr. 2025.

SCHAIRER, C. *et al.* Risk factors for inflammatory breast cancer and other invasive breast cancers. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 105, n. 18, p. 1373–1384, 2013. DOI: 10.1093/jnci/djt206. Disponível em: <https://academic.oup.com/jnci/article/105/18/1373/897190?login=true>. Acesso em: 15 out. 2024.

SCHROEDER, R. B.; MICHELON, T.; WURDIG, J.; KEITEL, E.; NEUMANN, J. Comparação entre técnicas de imunoistoquímica e de imunofluorescência para antigenemia PP65 do citomegalovírus (CMV) em receptores de transplante. **Brazilian Journal of Transplantation**, v. 12, n. 2, p. 1101–1104, 2009. DOI: 10.53855/bjt.v12i2.261. Disponível em: <https://bjt.emnuvens.com.br/revista/article/view/261>. Acesso em: 13 mar. 2025.

SENGELAUB, C. A. *et al.* PTPRN2 and PLC β 1 promote metastatic breast cancer cell migration through PI(4,5)P2-dependent actin remodeling. **The EMBO Journal**, v. 35, n. 1, p. 62–76, 2016. DOI 10.15252/embj.201591973. Disponível em: <https://www.embopress.org/doi/full/10.15252/embj.201591973>. Acesso em: 15 abr. 2025.

SHIRAKAWA, K. *et al.* Induction of vasculogenesis in breast cancer models. **British Journal of Cancer**, v. 87, n. 12, p. 1454–1461, 2002. DOI 10.1038/sj.bjc.6600610. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/6600610>. Acesso em: 20 abr. 2025.

SHIRAKAWA, K. *et al.* Tumor-infiltrating endothelial cells and endothelial precursor cells in inflammatory breast cancer. **International Journal of Cancer**, v. 99, n. 3, p. 344–351, 2002. DOI 10.1002/ijc.10336. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.10336>. Acesso em: 20 abr. 2025.

SHU, J.; DOLMAN, G. E.; DUAN, J.; QIU, G.; ILYAS, M. Statistical colour models: an automated digital image analysis method for quantification of histological biomarkers. **Biomedical Engineering Online**, v. 15, p. 46, 2016. DOI 10.1186/s12938-016-0161-6. Disponível em: <https://biomedical-engineering-online.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12938-016-0161-6>. Acesso em: 20 abr. 2025.

SILVA, Geilza Carla De Lima *et al.* Câncer de mama e o microambiente tumoral: uma perspectiva molecular e evolutiva. *Anais I CONBRACIS*, Campina Grande: Realize Editora, 2016. Disponível em: <https://editorarealize.com.br/artigo/visualizar/19027>. Acesso em: 20 out. 2024.

SILVERA, D.; SCHNEIDER, R. J. Inflammatory breast cancer cells are constitutively adapted

to hypoxia. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, v. 8, n. 19, p. 3091–3096, 2009.

DOI 10.4161/cc.8.19.9637. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/cc.8.19.9637>. Acesso em: 20 abr. 2025.

SINGLETERY, S. E.; CRISTOFANILLI, M. Defining the clinical diagnosis of inflammatory breast cancer. *Seminars in Oncology*, v. 35, n. 1, p. 7–10, 2008. DOI 10.1053/j.seminoncol.2007.11.010. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093775407002357?via%3Dihub>.

Acesso em: 20 abr. 2025.

SOKANOVIC, S. J. *et al.* Common and female-specific roles of protein tyrosine phosphatase receptors N and N2 in mice reproduction. *Scientific Reports*, v. 13, p. 355, 2023. DOI 10.1038/s41598-023-27497-4. Disponível em:

<https://www.nature.com/articles/s41598-023-27497-4>. Acesso em: 15 abr. 2025.

SOMLO, G. *et al.* Prognostic indicators and survival in patients with stage IIIB inflammatory breast carcinoma after dose-intense chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*, v. 22, n. 10, p. 1839–1848, 2004. DOI 10.1200/JCO.2004.10.147.

Disponível em: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2004.10.147>. Acesso em: 20 abr. 2025.

SOROKIN, A. V. *et al.* Aberrant Expression of proTPRN2 in Cancer Cells Confers Resistance to Apoptosis. *Cancer Research*, v. 75, n. 9, p. 1846–1858, 2015. DOI 10.1158/0008-5472.CAN-14-2718. Disponível em:

<https://aacrjournals.org/cancerres/article/75/9/1846/607107/Aberrant-Expression-of-proTPRN2-in-Cancer-Cells>. Acesso em: 15 abr. 2025.

TAVARES, A. C. T. ALTERAÇÕES NO NÚMERO DE CÓPIAS GENÔMICAS EM CARCINOMAS DE MAMA. Disponível em:

<https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/5944df1a-f917-47d6-8d08-102252b54e5a/content>. Acesso em: 13 set. 2024.

TEICHGRAEBER, D. C.; GUIRGUIS, M. S.; WHITMAN, G. J. Breast cancer staging: updates in the AJCC Cancer Staging Manual, 8th edition, and current challenges for radiologists, from the AJR special series on cancer staging. *American Journal of Roentgenology*, v. 217, n. 2, p. 278–290, 2021. DOI: 10.2214/AJR.20.25223. Disponível em:

<https://www.ajronline.org/doi/10.2214/AJR.20.25223>. Acesso em: 02 jan. 2025.

TOMLINSON, J. S.; ALPAUGH, M. L.; BARSKY, S. H. An intact overexpressed E-cadherin/ α , β -catenin axis characterizes the lymphovascular emboli of inflammatory breast carcinoma. *Cancer Research*, v. 61, n. 13, p. 5231–5241, 2001.

TONKS, N. K. Protein tyrosine phosphatases: from genes, to function, to disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 7, n. 11, p. 833–846, 2006. DOI 10.1038/nrm2039.

Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrm2039>. Acesso em: 15 abr. 2025.

TRIHIA, H. *et al.* Ki-67 expression in breast carcinoma: Its association with grading systems,

clinical parameters, and other prognostic factors—A surrogate marker?.

Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society, v. 97, n. 5, p. 1321–1331, 2003. DOI: 10.1002/cncr.11188. Disponível em:

<https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.11188>. Acesso em: 15 fev. 2025.

TURASHVILI, G.; BROGI, E. Tumor heterogeneity in breast cancer. **Frontiers in Medicine**, v. 4, p. 227, 2017. DOI 10.3389/fmed.2017.00227. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/journals/medicine/articles/10.3389/fmed.2017.00227/full>.

Acesso em: 20 abr. 2025.

UNION FOR INTERNATIONAL CANCER CONTROL. *Breast Cancer*. [S.l.]: UICC,

[s.d.]. Disponível em: <https://www.uicc.org/what-we-do/thematic-areas/breast-cancer>. Acesso em: 5 jul. 2024.

VAN DEN MAAGDENBERG, A. M. *et al.* Assignment of Ptpn2, the gene encoding receptor-type protein tyrosine phosphatase IA-2beta, a major autoantigen in insulin-dependent diabetes mellitus, to mouse chromosome region 12F. **Cytogenetics and Cell Genetics**, v. 82, n. 3–4, p. 153–155, 1998. DOI 10.1159/000015090.

Disponível em:

<https://karger.com/cgr/article-abstract/82/3-4/153/340107/Assignment-of-Ptpn2-the-gene-encoding-receptor?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 15 abr. 2025.

VAN DER AUWERA, I. *et al.* Quantitative assessment of DNA hypermethylation in the inflammatory and non-inflammatory breast cancer phenotypes. **Cancer Biology & Therapy**, v. 8, n. 23, p. 2250–2257, 2009. DOI 10.4161/cbt.8.23.10133. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/cbt.8.23.10133>. Acesso em: 20 abr. 2025.

VAN GOLEN, K. L. Inflammatory breast cancer biomarkers and biology. **International Review of Cell and Molecular Biology**, v. 384, p. 63–76, 2024. DOI 10.1016/bs.ircmb.2023.11.002. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1937644823001661?via%3Dihub>.

Acesso em: 15 abr. 2025.

VITALE, I. *et al.* Macrophages and Metabolism in the Tumor Microenvironment. **Cell Metabolism**, v. 30, n. 1, p. 36–50, 2019. DOI 10.1016/j.cmet.2019.06.001. Disponível em:

[https://www.cell.com/cell-metabolism/fulltext/S1550-4131\(19\)30304-3?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1550413119303043%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell-metabolism/fulltext/S1550-4131(19)30304-3?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1550413119303043%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 20 abr. 2025.

WALSH, J. M.; SWAIN, S. M. Clinical aspects of inflammatory breast cancer. **Breast Disease**, v. 22, p. 35–44, 2005. DOI 10.3233/bd-2006-2210. Disponível em:

<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.3233/BD-2006-22105>. Acesso em: 07 abr. 2025.

- WANG, J. *et al.* Altered cfDNA fragmentation profile in hypomethylated regions as diagnostic markers in breast cancer. **Epigenetics Chromatin**, v. 16, n. 1, p. 33, 2023. DOI 10.1186/s13072-023-00508-4. Disponível em: <https://epigeneticsandchromatin.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13072-023-00508-4>. Acesso em: 12 jan. 2025.
- WANG, J. J.; LEI, K. F.; HAN, F. Tumor microenvironment: recent advances in various cancer treatments. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 22, n. 12, p. 3855–3864, 2018. DOI 10.26355/eurrev_201806_15270. Disponível em: <https://www.europeanreview.org/article/15270>. Acesso em: 15 abr. 2025.
- WANG, K. S. *et al.* Bayesian Survival Analysis of Genetic Variants in PTPRN2 Gene for Age at Onset of Cancer. **International Journal of Clinical Biostatistics and Biometrics**, v. 1, p. 004, 2015. DOI: 10.23937/2469-5831/1510004. Disponível em: <https://clinmedjournals.org/articles/ijcbb/international-journal-of-clinical-biostatistics-a-nd-biometrics-ijcbb-1-004.php?jid=ijcbb>. Acesso em: 15 abr. 2025.
- WANG, W.; EDDY, R.; CONDEELIS, J. The cofilin pathway in breast cancer invasion and metastasis. **Nature Reviews Cancer**, v. 7, n. 6, p. 429–440, 2007. DOI 10.1038/nrc2148. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrc2148>. Acesso em: 15 abr. 2025.
- WANG, X. *et al.* Targeting signaling pathways in inflammatory breast cancer. **Cancers**, v. 12, n. 9, p. 2479, 2020. DOI 10.3390/cancers12092479. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/12/9/2479>. Acesso em: 20 abr. 2025.
- WATNICK, R. S. The Role of the Tumor Microenvironment in Regulating Angiogenesis. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 2, p. a006676, 2012. DOI: 10.1101/cshperspect.a006676. DOI: 10.1101/cshperspect.a006676. Disponível em: <https://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/2/12/a006676.long>. Acesso em: 17 out. 2024.
- WEIGELT, B.; GEYER, F. C.; REIS-FILHO, J. S. Histological types of breast cancer: how special are they? **Molecular Oncology**, v. 4, n. 3, p. 192–208, 2010. DOI 10.1016/j.molonc.2010.04.004. Disponível em: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/j.molonc.2010.04.004>. Acesso em: 20 abr. 2025.
- WOJTYLA, C. *et al.* Tendências europeias da mortalidade por cancro da mama, 1980–2017 e previsões para 2025. **Revista Europeia de Câncer (Oxford, Inglaterra: 1990)**, v. 152, p. 4–17, 2021. DOI 10.1016/j.ejca.2021.04.026. Disponível em: [https://www.ejancer.com/article/S0959-8049\(21\)00272-0/fulltext](https://www.ejancer.com/article/S0959-8049(21)00272-0/fulltext). Acesso em: 20 abr. 2025.
- WOODWARD, W. A. Inflammatory breast cancer: unique biological and therapeutic

considerations. **The Lancet. Oncology**, v. 16, n. 15, p. e568–e576, 2015. DOI 10.1016/S1470-2045(15)00146-1. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045\(15\)00146-1/abstract](https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(15)00146-1/abstract). Acesso em: 20 abr. 2025.

XIAO, Y.; YU, D. Tumor microenvironment as a therapeutic target in cancer. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 221, p. 107753, 2021. DOI 10.1016/j.pharmthera.2020.107753. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0163725820302849?via%3Dihub>. Acesso em: 15 abr. 2025.

XU, Y.; FISHER, G. J. Receptor type protein tyrosine phosphatases (RPTPs) – roles in signal transduction and human disease. **Journal of Cell Communication and Signaling**, v. 6, p. 125–138, 2012. DOI 10.1007/s12079-012-0171-5. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12079-012-0171-5>. Acesso em: 15 abr. 2025.

YAMAUCHI, H. *et al.* Inflammatory breast cancer: what we know and what we need to learn. **The Oncologist**, v. 17, n. 7, p. 891–899, 2012. DOI 10.1634/theoncologist.2012-0039. Disponível em: <https://academic.oup.com/oncolo/article/17/7/891/6403325>. Acesso em: 20 abr. 2025.

YIN, J.; GUO, Y. HOXD13 promotes the malignant progression of colon cancer by upregulating PTPRN2. **Cancer Medicine**, v. 10, n. 16, p. 5524–5533, 2021. DOI 10.1002/cam4.4078. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cam4.4078>. Acesso em: 15 abr. 2025.

ZHANG, X. Molecular classification of breast cancer: relevance and challenges. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 147, n. 1, p. 46–51, 2023. DOI 10.5858/arpa.2022-0070-RA. Disponível em: <https://meridian.allenpress.com/aplm/article/147/1/46/486473/Molecular-Classification-of-Breast-Cancer>. Acesso em: 20 abr. 2025.

ZHENG, Z. Z. *et al.* Integrated DNA methylation analysis reveals a potential role for PTPRN2 in Marfan syndrome scoliosis. **JOR Spine**, v. 7, n. 1, e1304, 2024. DOI 10.1002/jsp2.1304. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsp2.1304>. Acesso em: 15 abr. 2025.

APÊNDICE A - ARTIGO DE PUBLICAÇÃO

RESEARCH

Open Access



Inflammatory breast cancer microenvironment repertoire based on DNA methylation data deconvolution reveals actionable targets to enhance the treatment efficacy

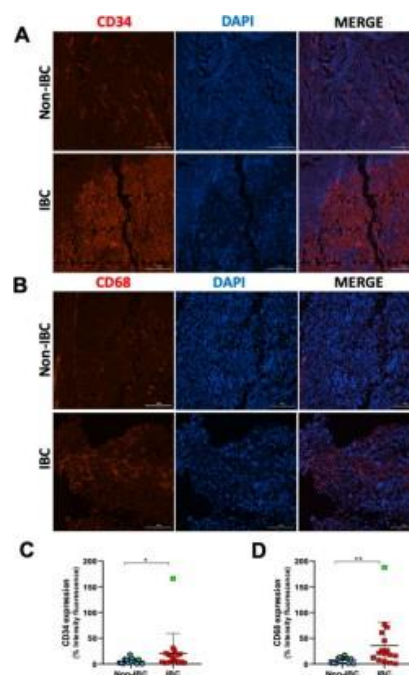
Naiade Calanca^{1,2†}, Flavia Lima Costa Faldoni^{1†}, Cristiano Pádua Souza³, Jeferson Santos Souza⁴, Bianca Elen de Souza Alves⁵, Milena Botelho Pereira Soares^{4,6}, Deysi Viviana Tenazoa Wong⁵, Roberto César Pereira Lima-Junior⁵, Fabio Albuquerque Marchi^{7,8}, Claudia Aparecida Rainho² and Silvia Regina Rogatto^{1,9,10*}

Abstract

Background Although the clinical signs of inflammatory breast cancer (IBC) resemble acute inflammation, the role played by infiltrating immune and stromal cells in this aggressive disease is uncharted. The tumor microenvironment (TME) presents molecular alterations, such as epimutations, prior to morphological abnormalities. These changes affect the distribution and the intricate communication between the TME components related to cancer prognosis and therapy response. Herein, we explored the global DNA methylation profile of IBC and surrounding tissues to estimate the microenvironment cellular composition and identify epigenetically dysregulated markers.

Methods We used the HiTME algorithm to deconvolve the bulk DNA methylation data of 24 IBC and six surrounding non-tumoral tissues (SNT) (GSE238092) and determine their cellular composition. The prognostic relevance of cell types infiltrating IBC and their relationship with clinicopathological variables were investigated. CD34 (endothelial cell marker) and CD68 (macrophage marker) immunofluorescence staining was evaluated in an independent set of 17 IBC and 16 non-IBC samples.

Results We found lower infiltration of endothelial, stromal, memory B, dendritic, and natural killer cells in IBC than in SNT samples. Higher endothelial cell (EC) and stromal cell content were related to better overall survival. EC proportions positively correlated with memory B and memory CD8⁺ T infiltration in IBC. Immune and EC markers exhibited distinct DNA methylation profiles between IBC and SNT samples, revealing hypermethylated regions



APÊNDICE B - ARTIGO DE PUBLICAÇÃO



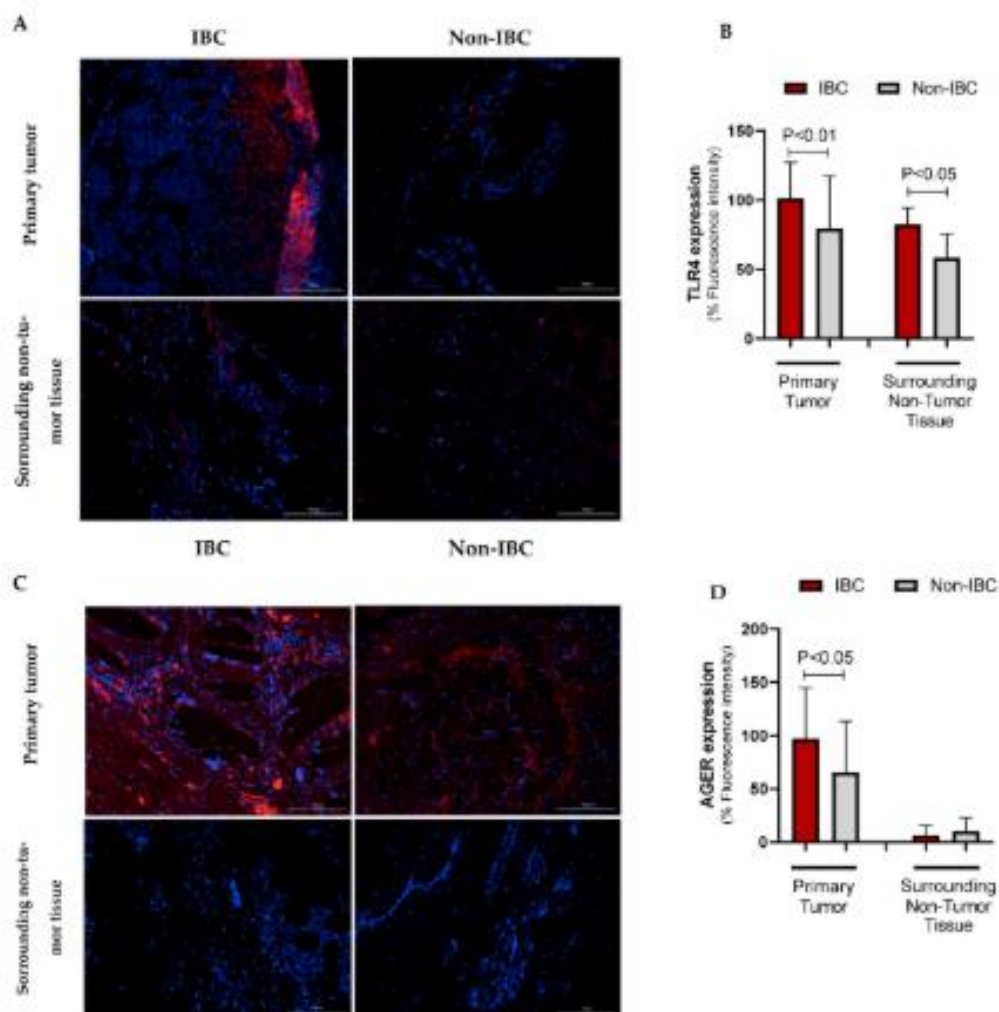
Article

Clinical Significance and Prognostic Value of TLR4 and AGER in Inflammatory Breast Cancer

Luiza Darla Aguiar Silva Paiva ^{1,†}, Ana Carolina Filgueiras Teles ^{2,†}, Jeferson dos Santos Souza ³ , Pedro Ruan Amorim Oliveira ², Bianca Elen Souza Alves ² , Mariana Timbaúba Benício Coelho ⁴, Aurilene Gomes Cajado ² , Isabelle Fátima Vieira Camelo Maia ², Paulo Goberlânio Barros Silva ¹, Diane Isabelle Magno Cavalcante ^{2,4} , Maria do Perpétuo Socorro Saldanha Cunha ¹, Larissa Mont'Alverne Arruda ¹, Roberto César Pereira Lima-Júnior ^{1,2} , Silvia Regina Rogatto ^{5,6} and Deysi Viviana Tenazoa Wong ^{1,2,*}

Cancers 2023, 17, 2182

9 of 18



ANEXO A - ESTADIAMENTO ANATÔMICO TNM, AJCC 7 EDIÇÃO

Estádio	TNM		
0	Tis N0 M0		
IA	T1 N0 M0		
IB	T0 N1mi M0	T1 N1mi M0	
IIA	T0 N1 M0	T1 N1 M0	T2 N0 M0
IIB	T2 N1 M0	T3 N0 M0	
IIIA	T0 N2 N0	T1 N2 M0	T2 N2 M0
	T3 N1 M0	T3 N2 M0	
IIIB	T4 N0 M0	T4N1M0	T4N2M0
IIIC	qT N3 M0		
IV	qT qN M1		

is: in situ; mi:micrometástase.