



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL



GUSTAVO MILHOMENS NOGUEIRA

“O PERFIL IMUNOFENOTÍPICO DAS CÉLULAS DENDRÍTICAS NO  
MICROAMBIENTE DO CÂNCER DE MAMA EM MULHERES JOVENS”

RIBEIRÃO PRETO

2022

GUSTAVO MILHOMENS NOGUEIRA

Versão corrigida. A versão original encontra-se disponível tanto na Biblioteca da Unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD)

**“O PERFIL IMUNOFENOTÍPICO DAS CÉLULAS DENDRÍTICAS NO  
MICROAMBIENTE DO CÂNCER DE MAMA EM MULHERES JOVENS”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Esquiche León

RIBEIRAO PRETO  
2022

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Assinatura: \_\_\_\_\_



Data: 30 /03 / 2023

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil

(CAPES)

#### Catálogo na Publicação

#### Serviço de Documentação

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Nogueira, Gustavo Milhomens

O perfil imunofenotípico das células dendríticas no microambiente do câncer de mama em mulheres jovens. Ribeirão Preto, 2022.  
135 f.:il.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Área de Concentração: Patologia.

Orientador: Léon, Jorge Esquiche

1. Câncer de mama. 2. Mulheres jovens. 3. Carcinoma ductal invasivo. 4. Imunovigilância. 5. Microambiente tumoral 6. Células dendríticas 7. Prognóstico

Nome: NOGUEIRA, Gustavo Milhomens

Título: O PERFIL IMUNOFENOTÍPICO DAS CÉLULAS DENDRÍTICAS NO MICROAMBIENTE DO CÂNCER DE MAMA EM MULHERES JOVENS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor.

Aprovado em:

### **Banca Examinadora**

Prof. Dr. Jorge Esquiche Leon

Instituição: FORP/USP

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Fernando Silva Ramalho.

Instituição: FMRP/USP

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Daniel Guimarães Tiezzi.

Instituição: FMRP/USP

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Profa. Dra. Helenice Gobbi.

Instituição: UFTM.

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

## DEDICATÓRIA

À minha mãe, **Anna de Andrade Nogueira** (*In Memoriam*), a minha grande inspiração para vencer os grandes desafios da vida, que vibrou muito à minha entrada no Doutorado e agora dedico-lhe a realização desta obra.

Ao meu pai, **Ovídio Milhomens Nogueira**, porto seguro que sempre me apoiou na vida e no meu progresso discente desde as primeiras tabuadas decoradas da infância até realização do Doutorado.

À minha filha, **Luisa Soares Nogueira**, a razão da minha vida, o motivo que me faz acordar todos os dias em busca do crescimento pessoal.

## AGRADECIMENTOS

Ao orientador **Prof. Dr. Alfredo Ribeiro da Silva** (*in memoriam*) pela confiança mútua estabelecida e pela generosidade ao compartilhar o seu conhecimento, sempre acompanhado de um bom cafezinho (a maneira carinhosa que nos recebia e demonstrava a sua atenção).

Ao orientador (adjunto) **Prof. Dr Jorge Esquiche Leon**, pelo acolhimento e disposição para me orientar no momento mais difícil do doutorado. Abriu as portas do laboratório de imuno-histoquímica, dispôs os anticorpos, orientou na coleta de dados, me encorajou, motivou-me, impulsionou-me, cobrou-me, pegou no pé, enfim, fundamental para a concretização desta tese. Eternamente grato.

Ao **Prof. Dr. Fernando Silva Ramalho** (Coodenador do Programa de Pós-graduação em Patologia da FMRP-USP) pela generosidade em me atender sempre prontamente e me auxiliando no que fosse preciso.

A todos os professores do **Departamento de Patologia e Medicina Legal** que foram essenciais para minha formação e pelos quais tenho profunda admiração. Nunca perdi a oportunidade de aprender um pouquinho com cada um, seja nas aulas, nas palestras, nos laboratórios ou na leitura de lâminas. Levo comigo não só os conhecimentos transmitidos, mas também muita inspiração para minha vida profissional. A minha gratidão aos professores.

Aos funcionários e técnicos (as) do Departamento de Patologia e Medicina Legal, em especial para **a Marcia Ap. Ferreira Oliva, Laura Midori Kawasse, Deyse Mara da Silva e Marlei Josieli Augusto** que participaram das preparações histotécnicas.

Ao **Heytor Albergoni da Silveira** que ensinou e colaborou com as técnicas de imuno-histoquímicas no Laboratório de Imuno-histoquímica da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP).

Às secretárias do Departamento de Patologia e Medicina Legal, e em especial: **Camila de Luca Zambonini Gimenes e Rosângela Mazzucato C. de Paiva.**

À agência de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (**CAPES**) pelo financiamento da bolsa de apoio.



Mude, mas comece devagar, porque a direção é mais importante  
que a velocidade.  
Mude, lembre-se que a vida é uma só,  
Experimente coisas novas,  
troque novamente,  
mude, de novo  
Experimente outra vez "

(Edson Marques).

## SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	X
LISTA DE TABELAS.....	XIII
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS .....	XIV
RESUMO.....	XVI
ABSTRACT.....	XVIII
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>20</b>
1.1 EPIDEMIOLOGIA .....	20
1.2 ETIOLOGIA .....	22
1.3 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DO CÂNCER DE MAMA.....	24
1.4 CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS.....	25
1.5 CARACTERÍSTICAS IMUNO-HISTOQUÍMICAS.....	27
1.6 SUBTIPOS MOLECULARES.....	28
1.7 TRATAMENTO .....	29
1.8 PROGNÓSTICO.....	30
1.9 IMUNOPATOLOGIA DO CÂNCER DE MAMA .....	31
1.10 CÉLULAS DENDRÍTICAS .....	32
1.11 AS CÉLULAS DENDRÍTICAS E O CÂNCER DE MAMA.....	33
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>35</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	35
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	35
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>36</b>
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO.....	36
3.2 CASUÍSTICA .....	36
3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS DADOS CLINICOPATOLÓGICOS .....	37
3.4. ESTUDO IMUNO-HISTOQUÍMICO .....	40
3.4.1. Microarranjo De Tecido (TMA).....	40
3.4.2 Caracterização Imuno-Histoquímica Das Células Dendríticas.....	40
3.4.3. Técnica Imuno-Histoquímica .....	40
3.4.4. Quantificação Das Células Dendríticas No Microambiente Tumoral .....	42
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>44</b>
4.1 ACHADOS CLINICOPATOLÓGICOS POR FAIXA ETÁRIA.....	44
4.1.1 O tamanho tumoral ao momento do diagnóstico por faixa etária.....	45
4.1.2 O sistema de classificação TNM do CI-TNE por faixa etária .....	45
4.1.3 O grau histológico de Nottingham no CI-TNE por faixa etária .....	48
4.1.4 O estágio anatômico no CI-TNE por faixa etária .....	49
4.1.5 Receptores hormonais no CI-TNE por faixa etária .....	50
4.1.6 Receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2) no CI-TNE por faixa etária .....	51
4.1.7 Caracterização dos subtipos moleculares do CI-TNE por faixa etária .....	52
4.1.8 Ocorrência de necrose tumoral no CI-TNE por faixa etária .....	53
4.1.9 Lateralidade no CI-TNE por faixa etária.....	54
4.1.10 Prognóstico do câncer de mama invasivo nos grupos de faixa etária .....	55



4.2 ACHADOS IMUNO-HISTOQUÍMICOS DO PERFIL DE CÉLULAS .....	56
4.2.1 Células Dendríticas No Microambiente Tumoral Por Faixa Etária.....	56
4.2.2 CÉLULAS DE LANGERHANS (CLs).....	58
4.2.3. Células Dendríticas Maduras .....	61
4.2.4 CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITÓIDES .....	63
4.3 CORRELAÇÃO DOS ACHADOS IMUNO-HISTOQUÍMICOS COM VARIÁVEIS CLINICOPATOLÓGICAS INDEPENDENTE DA IDADE .....	65
4.3.1 células de Langerhans .....	65
4.3.2 CÉLULAS DENDRÍTICAS MADURAS .....	74
4.3.3 Células Dendríticas Plasmocitoides .....	80
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>87</b>
5.1 MULHERES JOVENS ESTÃO ASSOCIADAS COM FATORES DE PIORES PROGNÓSTICOS .....	87
5.2 CÉLULAS DE LANGERHANS (CÉLULAS DENDRÍTICAS IMATURAS) ESTÃO ASSOCIADAS A FATORES DE MAU PROGNÓSTICO E SÃO PREVALENTES NO MICROAMBIENTE TUMORAL DE MULHERES JOVENS.....	91
5.3 CÉLULAS DENDRÍTICAS MADURAS ESTÃO ASSOCIADAS A FATORES DE BOM PROGNÓSTICO E SÃO PREVALENTES NO MICROAMBIENTE TUMORAL DE MULHERES IDOSAS .....	94
5.4 CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITÓIDES ESTÃO ASSOCIADOS A FATORES DE MAU PROGNÓSTICO E SÃO PREVALENTES NAS MULHERES JOVENS.....	97
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>101</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>102</b>
<b>ANEXO A - PARECER DE APROVAÇÃO DO CEP .....</b>	<b>127</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1-</b> Incidência do câncer de mama idade-específica em mulheres nos Estados Unidos no período de 2010 a 2014. Fonte: Howlader et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2014, National Cancer Institute. Bethesda, MD, <a href="https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/">https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/</a> , baseado nos dados submetidos pelo SEER em novembro de 2016, postado no website SEER em abril de 2017.....	16
<b>Figura 2-</b> Porcentagem acumulada do câncer de mama em mulheres nos Estados Unidos no período de 2010 a 2014. Fonte: Howlader et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2014, National Cancer Institute. Bethesda, MD, <a href="https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/">https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/</a> , baseado nos dados submetidos ao SEER em novembro de 2016, postado no web site da SEER em abril de 2017.....	17
<b>Figura 3 -</b> Tamanho tumoral médio (mm) de acordo com o grupo de faixa etária. G1: Mulheres jovens ( $\leq 35$ anos de idade); G2:Mulheres adultas (36 a 50 anos de idade); G3: Mulheres idosas ( $>50$ anos de idade).....	41
<b>Figura 4 -</b> Tamanho tumoral (T) pela classificação TNM da AJCC Cancer Staging Manual 7 ed nos diferentes grupos por faixa etária.....	42
<b>Figura 5 -</b> Metástase em linfonodo (N) pela classificação TNM da AJCC Cancer Staging Manual 8 ed nos diferentes grupos por faixas etárias.....	43
<b>Figura 6 -</b> Metástase a distância (M) nos grupos de faixa etária.....	44
<b>Figura 7-</b> Grau histológico (Nottingham) nos diferentes grupos de faixa etária.....	45
<b>Figura 8 -</b> Estágio anatômico nos diferentes grupos de faixa etária.....	46
<b>Figura 9 -</b> Presença receptores hormonais no câncer de mama em mulheres nos grupos de faixas etárias.....	47
<b>Figura 10 -</b> Presença do receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2) no CI-TNE por faixa etária.....	48
<b>Figura 11 -</b> Subtipos moleculares do câncer de mama em mulheres nos grupos de faixas etárias.....	49
<b>Figura 12 -</b> Presença de necrose tumoral no CI-TNE nos diferentes grupos por faixa etária.....	50
<b>Figura 13 -</b> Lateralidade do CI-TNE nos diferentes grupos por faixa etária.	51

- Figura 14** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o grupo de faixa etária com diagnóstico do câncer de mama ductal invasivo. (a) Sobrevida específica do câncer de mama não mostrou diferenças entre os grupos por faixa etária ( $p=0,13$ ). (b) Sobrevida livre de progressão variou entre os grupos por faixa etária ( $p=0,0002$ )..... 52
- Figura 15** - Gráfico mostrando a frequência de CDs comparativamente por faixa etária..... 53
- Figura 16** - Gráfico de pontos mostrando a dispersão de CDs comparativamente por faixa etária. Os pontos escuros representam a densidade média de células positivas (número de células positivas/ campo de grande aumento)..... 53
- Figura 17** - Imunocaracterização de células de Langerhans através dos marcadores S100, CD1a e 207 no microambiente tumoral do CI-TNE nos diferentes grupos por faixa etária (x400)..... 54
- Figura 18** - Distribuição das densidades de células dendríticas S100+ intratumorais nos grupos de faixas etárias de mulheres com CI-TNE..... 55
- Figura 19** - Imunocaracterização de CDs maduras por marcadores CD83 e CD208 no microambiente tumoral do CI-TNE nos diferentes grupos por faixa etária (x400)..... 58
- Figura 20** - Imunocaracterização de CDp através dos marcadores CD123 e CD303 no microambiente tumoral de CI-TNE nos diferentes grupos por faixa etária (X400)..... 60
- Figura 21** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o nível de infiltração das células S100+ no microambiente tumoral. Sobrevida específica do câncer de mama não mostrou diferenças entre as células CD S100+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,36$ ). Simirlamente, a sobrevida livre de progressão não mostrou diferenças entre os níveis alto e baixo de infiltração de células S100+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,54$ ). 64
- Figura 22** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o nível de infiltração das células CD1a+ no microambiente tumoral. Sobrevida específica do câncer de mama não mostrou diferenças entre as células CD1a+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,56$ ). Similarmente, a sobrevida livre de progressão não mostrou diferenças entre os níveis alto e baixo de infiltração de células S100+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,75$ ). 67

- Figura 23** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o nível de infiltração das células CD207+ no microambiente tumoral. Sobrevida específica do câncer de mama não mostrou diferenças entre as células CD 207 no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,61$ ). Sobrevida livre de progressão não mostrou diferenças entre os níveis alto e baixo de infiltração de células CD207+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,45$ )..... 70
- Figura 24** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o nível de infiltração das células CD83+ no microambiente tumoral. Sobrevida específica do câncer de mama foi maior nos pacientes com nível alto de infiltração por CD83+ em relação à pacientes com nível baixo de infiltração por CD83+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,04$ ). Sobrevida livre de progressão foi maior nas pacientes com alto nível de infiltração por CD83+ em relação à pacientes com baixo nível observado até aproximadamente 80 meses. Após esse período, a SEC não mostrou diferenças entre os níveis alto e baixo de infiltração de células CD83+ no microambiente tumoral a(Log rank,  $p=0,5$ )..... 73
- Figura 25** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o nível de infiltração das células CD208+ no microambiente tumoral. Sobrevida específica do câncer de mama não mostrou diferenças entre as células CD208+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,80$ ). Similarmente, a sobrevida livre de progressão não mostrou diferenças entre os níveis alto e baixo de infiltração de células CD208+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,58$ )..... 75
- Figura 26** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o nível de infiltração das células CD123+ no microambiente tumoral. Sobrevida específica do câncer de mama não mostrou diferenças entre as células CD123+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,98$ ). Similarmente, a sobrevida livre de progressão não mostrou diferenças entre os níveis alto e baixo de infiltração de células CD123+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,10$ )..... 79
- Figura 27** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o nível de infiltração das células CD303+ no microambiente tumoral. Sobrevida específica do câncer de mama não mostrou diferenças entre as células CD303+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,94$ ). Similarmente, a sobrevida livre de progressão não mostrou diferenças entre os níveis alto e baixo de infiltração de células CD303+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,88$ )..... 82

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Distribuição dos grupos de faixas etárias.....	33
<b>Tabela 2</b> - Lista de anticorpos, clones, diluições e técnica imunohistoquímica empregada para a caracterização de subgrupos de células dendríticas.....	38
<b>Tabela 3</b> - Variáveis clínicas por faixa etária em pacientes com diagnóstico de CI-TNE .....	40
<b>Tabela 4</b> - Distribuição das células S100+ infiltrantes no CI-TNE nos diferentes grupos por faixa etária.....	55
<b>Tabela 5</b> - Distribuição de células CD1a+ infiltrantes no tumor nos diferentes grupos por faixa etária.....	56
<b>Tabela 6</b> - Distribuição de células CD207+ no microambiente tumoral nos diferentes grupos por faixa etária.....	56
<b>Tabela 7</b> - Distribuição de células CD83+ no microambiente tumoral nos diferentes grupos por faixa etária.....	57
<b>Tabela 08</b> - Distribuição de células CD208+ no microambiente tumoral dos diferentes grupos por faixa etária.....	58
<b>Tabela 09</b> - Distribuição de células CD 123+ no microambiente tumoral de mulheres com CI-TNE por faixa etária.....	59
<b>Tabela 10</b> - Células S100+ em correlação com dados clinicopatológicos	62
<b>Tabela 11</b> - Células CD1a+ em correlação com dados clinicopatológicos	65
<b>Tabela 12</b> - Células CD207+ em correlação com dados clinicopatológicos	68
<b>Tabela 13</b> - Células CD83+ em correlação com dados clinicopatológicos	71
<b>Tabela 14</b> - Células CD208+ em correlação com dados clinicopatológicos	74
<b>Tabela 15</b> - Células CD123+ em correlação com dados clinicopatológicos	78
<b>Tabela 16</b> - Células CD303+ em correlação com dados clinicopatológicos	80

**LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

SEC	Sobrevida específica para o câncer de mama.
SLP	Sobrevida livre de progressão.
CL	Células de Langerhans.
CDs	Células dendríticas.
IHQ	Imuno-histoquímica.
CDp	Células dendríticas plasmocitoides.
G1	Grupo 1 Mulheres jovens.
G2	Grupo 2 Mulheres adultas.
G3	Grupo 3 Mulheres idosas.
CI-TNE	Carcinoma mamário invasivo de tipo não especial.
TN	Subtipo Triplo Negativo.
HER2	Fator de crescimento epidérmico humano.
BRCA1	Breast câncer gene 1.
BRCA2	Breast câncer gene 2.
mRNA	RNA mensageiro.
SGN	Sistema de graduação histológica de Nottingham.
IPN	Índice prognóstico de Nottingham.
RE	Receptor de estrógeno.
RP	Receptor de progesterona.
RH	Receptores hormonais.
FISH	Hibridização <i>in situ</i> fluorescente.
PDL-1	Ligante de morte celular programada 1.
CART-T	Receptor quimérico de antígeno de células T.

Tregs	Células T regulatórias.
NK	Natural killers.
TILs	Linfócitos infiltrantes do tumor.
CTLA-4	Antígeno 4 de linfócitos T citotóxico.
MDSC	Células supressoras derivadas da linhagem mieloide.
TAM	Macrófagos associados ao tumor.
IL	Interleucina.
TGF- $\beta$	Fator transformador de crescimento $\beta$ .
IDO	Idoleamina 2,3 dioxigenase.
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos.
DAMPs	Padrões moleculares associado ao dano.
APC	Células apresentadora de antígeno.
CDi	Células dendríticas imaturas.
CDmo	Células dendríticas derivadas de monócitos.
MHC-I	Complexo de histocompatibilidade principal de classe I.
MHC-II	Complexo de histocompatibilidade principal de classe II.
CCR7	Receptor de quimiocina 7 motif C-C.
TNM	Sistema de estadiamento anatômico.
T	Categoria tamanho do tumor primário.
N	Categoria status dos linfonodos regionais.
M	Categoria presença de metástases à distância.
TMA	Microarranjo de tecido.
DAB	Diaminobenzidina

NOGUEIRA, G.M. **O perfil imunofenotípico das células dendríticas no microambiente do câncer de mama em mulheres jovens.** Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

## RESUMO

O câncer de mama é a neoplasia maligna mais frequente e a maior causa de morte entre as mulheres em todo o mundo. A maioria dos casos é diagnosticada após 40 anos. No entanto, quando ocorre abaixo dos 35 anos, o câncer se apresenta em estágio mais avançado, é mais agressivo com um prognóstico mais desfavorável. Embora nos últimos anos se tenha estudado as bases genéticas e epigenéticas que possam justificar o pobre prognóstico do câncer de mama em mulheres jovens, o papel da resposta imunológica no microambiente tumoral não tem sido abordado. Entre as células do sistema imune, as células dendríticas (CDs) são componentes importantes do sistema imune inato e principais reguladoras da imunidade mediada por linfócitos B e T, devido à sua capacidade de capturar, processar e apresentar antígenos associados ao tumor. No presente estudo, nós investigamos o perfil fenotípico de CDs no microambiente tumoral do câncer de mama em mulheres de diferentes faixas etárias, visando um melhor entendimento da imunovigilância tumoral na patogênese do câncer de mama, sobretudo no grupo de pacientes jovens. Foram selecionados 431 casos afetando mulheres com diagnóstico de carcinoma ductal invasivo (tipo não especial), distribuídos em três grupos: Grupo G1 ( $\leq 35$  anos,  $n=109$ ), G2 (36-50 anos,  $n=118$ ), e G3 ( $> 50$  anos,  $n=204$ ). Os dados clinicopatológicos foram obtidos no Serviço de Arquivo Médico (SAME) do HCFMRP/USP. As informações clinicopatológicas coletadas foram grau histológico, subtipo molecular, sistema TNM, estadiamento clínico, sobrevida específica para o câncer de mama (SEC) e a sobrevida livre de progressão (SLP). Por imuno-histoquímica (IHQ), foram avaliadas: (I) Células de Langerhans (CLs; S100, CD1a, CD207); (II) CDs maduras (CD83, CD208); e (III) CDs plasmocitoides (CDp; CD123, CD303). Os nossos resultados mostraram que T1 e T3 foram mais frequentes no G3 e G1, respectivamente. O N0 e N2 foi mais frequente no G3 e G1, respectivamente. O M1 foi significativamente mais frequente no G1 do que G2/G3. As neoplasias grau III foram significativamente mais frequentes no G1 do que G2/G3. O G1 e G2/G3 foram mais comumente diagnosticados nos estágios III e II, respectivamente. O G1 apresentou maior número de casos RE negativo e do subtipo Triplo negativo. O G1 teve uma SLP significativamente pior quando comparado com G2/G3. Em relação aos achados IHQs, foi observado que as CLs foram prevalentes no G1 quando comparado com G2/G3. Diferentemente, as CDs maduras foram prevalentes no G3, sendo significativo somente para CD83. As CDp CD123+ foram significativamente prevalentes no G1 quando comparado com G2/G3, sem diferenças considerando as CDp CD303+. Considerando que a infiltração de CLs e CDp (perfil pró-tumoral) no microambiente tumoral de G1 foi maior que G2/G3, os nossos resultados fornecem valiosos dados para um melhor entendimento da interação do sistema imune (CDs) com a carcinogênese mamária. Sugere-se que imunoterapia pode ser relevante, especificamente focando à depleção de CDp e estimulando mecanismos de ativação ou maturação de CLs, visando melhores taxas de sobrevida e prognóstico em pacientes jovens com câncer de mama.



**Descritores:** Câncer de mama, mulheres jovens, carcinoma ductal invasivo, carcinoma invasivo de mama de tipo não especial, imunovigilância, microambiente tumoral, células dendríticas, células de Langerhans, células dendríticas plasmocitoides, prognóstico.

NOGUEIRA, G.M. **The immunophenotypic profile of dendritic cells in the microenvironment of breast cancer in young women.** Thesis (PhD) - Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

### ABSTRACT

Breast cancer is the most common malignancy and the leading cause of death among women worldwide. Most cases are diagnosed after age 40. However, when it occurs under 35 years of age, the cancer presents at a more advanced stage, is more aggressive, and has a poorer prognosis. Although in recent years several studies have analyzed genetic and epigenetic factors that can justify the poor prognosis of breast cancer in young women, the role of the immune response in the tumor microenvironment is not has been addressed. Among the cells of the immune system, dendritic cells (DCs) are important components of the innate immune system and key regulators of B and T cells, due to their ability to capture, process, and present tumor-associated antigens. In the present study, we investigated the phenotypic profile of DCs in the tumor microenvironment of breast cancer in women of different age groups, aiming at a better understanding of tumor immunosurveillance in the pathogenesis of breast cancer, especially in the group of young patients. We selected 431 cases affecting women diagnosed with invasive ductal carcinoma (no special type), divided into three groups: Group 1 (G1,  $\leq 35$  years,  $n=109$ ), G2 (36-50 years,  $n=118$ ), and G3 ( $> 50$  years,  $n=204$ ). Clinicopathological data were obtained from the Medical Archive Service (SAME) of the HCFMRP/USP. Clinicopathological information was histological grade, molecular subtype, TNM system, clinical staging, and breast cancer-specific survival (BCSS) and progression-free survival (PFS). By immunohistochemistry (IHC), the following were evaluated: (I) Langerhans cells (LCs; S100, CD1a, CD207); (II) mature DCs (CD83, CD208); and (III) plasmacytoid DCs (pDC; CD123, CD303). Our results showed that T1 and T3 were more frequent in G3 and G1, respectively. N0 and N2 being more frequent in G3 and G1, respectively. M1 was significantly more frequent in G1 than G2/G3. Grade III neoplasms were significantly more frequent in G1 than G2/G3. G1 and G2/G3 were most diagnosed in stages III and II, respectively. In general, most tumors were of the Luminal A subtype. However, we found that G1 had a greater number of ER negative cases and the Triple negative subtype. G1 had a significantly worse PFS when compared to G2/G3. Regarding the IHC findings, in general, we have observed that CLs were prevalent in G1 when compared to G2/G3. In contrast, mature DCs were prevalent in G3, being significant only for CD83. CD123+ pDC were significantly prevalent in G1 when compared to G2/G3, with no differences considering CD303+ pDC. Considering that the infiltration of LCs and pDC (pro-tumor profile) in the tumor microenvironment of G1 was greater than G2/G3, our results provide valuable data for a better understanding of the interaction of the immune system (DCs) with breast carcinogenesis. Suggests that immunotherapy may be relevant, specifically targeting pDC depletion and stimulating mechanisms of activation or maturation of LCs, aiming at better survival rates and prognosis in young patients with breast cancer.

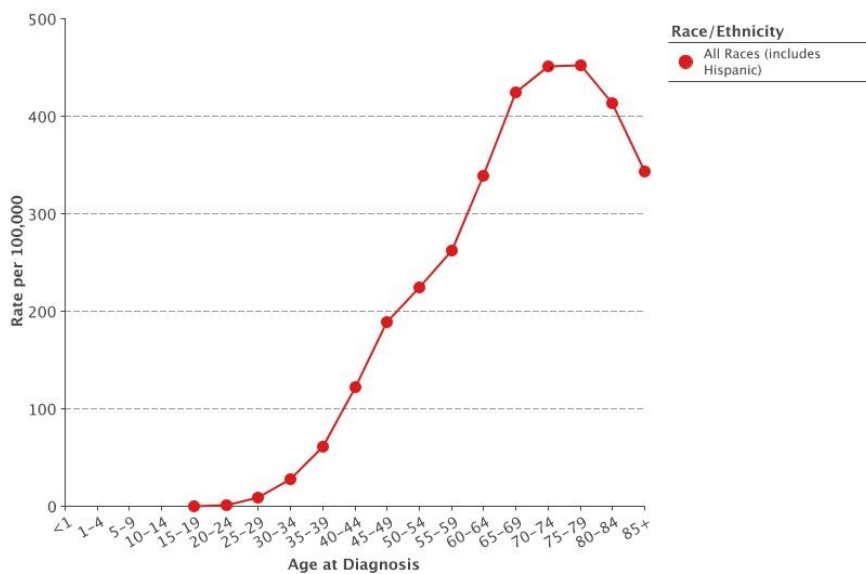
**Keywords:** Breast cancer, young women, invasive ductal carcinoma, invasive breast carcinoma of no special type, immunosurveillance, tumor microenvironment, dendritic cells, Langerhans cells, plasmacytoid dendritic cells, prognosis.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Epidemiologia

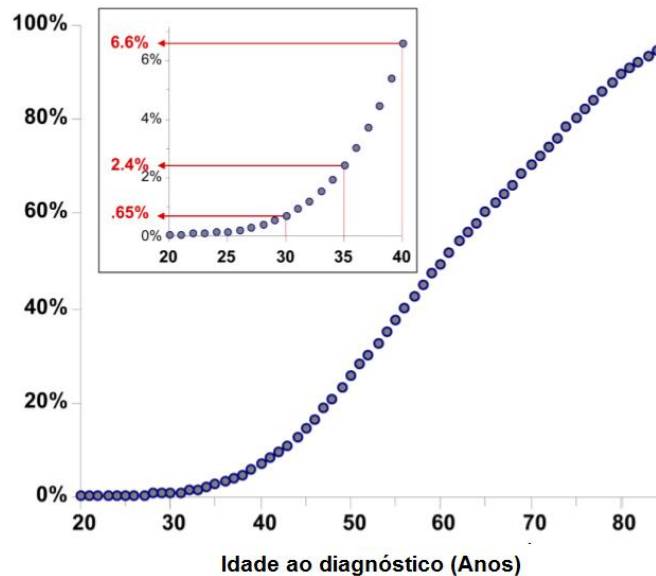
O câncer é a segunda principal causa de morte nos países desenvolvidos, contabilizando total de 9,9 milhões de mortes, ficando atrás apenas das doenças cardiovasculares com 17,9 milhões de casos (WHO, 2020). Dentre os tipos de cânceres, a neoplasia maligna de mama é a mais frequente em todo o mundo com um número de 2,26 milhões de novos casos diagnosticados em 2020, representando aproximadamente 11,7% de todos os cânceres (FERLAY *et al.*, 2021). Entre as mulheres, o câncer de mama também é considerado a principal causa de morte por câncer ao redor do mundo, representando 24,5% das mortes por câncer neste grupo (FERLAY *et al.*, 2021).

O câncer de mama em mulheres pode ocorrer em qualquer idade, porém, a incidência do câncer de mama geralmente aumenta com a idade, com a grande maioria das mulheres diagnosticadas após a idade de 40 anos (Fig.01).



**Figura 1.** Incidência do câncer de mama idade-específica em mulheres nos Estados Unidos no período de 2010 a 2014. Fonte: Howlader et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2014, National Cancer Institute. Bethesda, MD, [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2014/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/), baseado nos dados submetidos pelo SEER em novembro de 2016, postado no website SEER em abril de 2017.

Quando analisamos a distribuição do câncer de mama nos Estados Unidos em porcentagem acumulada por faixa etária, verificamos uma curva sigmoide em mulheres abaixo de 55 anos (Fig.02), com 6,6% dos casos diagnosticado abaixo dos 40 anos, 2,4% dos casos diagnosticado abaixo dos 35 anos e 1% antes dos 30 anos (HOWLADER *et al.*, 2017).



**Figura 2.** Porcentagem acumulada do câncer de mama em mulheres nos Estados Unidos no período de 2010 a 2014. Fonte: Howlader et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2014, National Cancer Institute. Bethesda, MD, [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2014/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/), baseado nos dados submetidos ao SEER em novembro de 2016, postado no web site da SEER em abril de 2017.

Recentemente, um estudo na população brasileira mostrou uma alta incidência de câncer de mama em pacientes jovens (ORLANDINI *et al.*, 2021). Neste estudo, os dados de prevalência de câncer de mama invasivo por faixa etária, usando três bases de dados de câncer de mama do Brasil (Fundação Oncocentro de São Paulo (FOSP), Hospital das Clínicas – FMRP/USP (HCRP) e Instituto Nacional de Câncer (INCA) revelaram que 4% e 20% das pacientes tinham <35 e <45 anos, respectivamente.

Embora o câncer de mama seja menos comum em mulheres abaixo dos 35 anos, quando ele ocorre nessa faixa etária, tende a se apresentar em estágio mais avançado, ser mais agressivo e ter um prognóstico mais desfavorável quando comparado com mulheres acima dos 35 anos (COLLEONI *et al.*, 2002; FLEURIER *et al.*, 2018). Em destaque, as mulheres abaixo dos 35 anos apresentam tumores mais

agressivos com anaplasia evidente, maior frequência de fenótipo Triplo negativo, super expressão do receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2) e altas taxas de linfonodos metastáticos (SOERJOMATARAM *et al.*, 2007; WALKER *et al.*, 1996; FREDHOLM *et al.*, 2009; LIEDTKE *et al.*, 2015; ORLANDINI *et al.*, 2021). Além disso, há evidências de que mulheres com diagnóstico de câncer de mama em idade jovem (<35 anos ou <40 anos) apresentam menores taxas de sobrevida global, além de menores taxas de sobrevida livre de doença (HAN *et al.*, 2004; HARTLE *et al.*, 2006; ANDERS *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2016).

O conceito de mulheres jovens tem variado entre autores que muitas vezes se utilizam de critérios arbitrários ou empíricos para definirem idades limites de 30, 35 ou 40 anos (ZIMMER *et al.*, 2017; ERIC, 2018; ZHANG *et al.*, 2018; ORLANDINI *et al.*, 2021). No entanto, um estudo estabeleceu com critérios razoáveis a idade limite de 35 anos para definir mulheres jovens (HAN; KANG, 2009). Neste estudo, o autor demonstrou que a sobrevida global de mulheres de 30 a 34 anos foi significativamente pior do que nas mulheres de 35 a 39 anos. Mas a sobrevida global na diferiu entre as mulheres na faixa etária de 35 a 39 anos e as mulheres acima de 40 anos. Além disso, o autor demonstrou que nas mulheres abaixo de 35 anos, o risco de morte cresceu 5% a cada ano de decréscimo na idade. Já as mulheres com 35 anos ou mais não apresentaram variações no risco de morte com a idade.

## 1.2 Etiologia

A etiologia do câncer de mama é multifatorial e envolvem fatores ambientais, de estilo de vida, fatores hormonais/reprodutivos, além de fatores hereditários. Estudos epidemiológicos apontam que o câncer de mama é uma doença de países desenvolvidos e com estilo de vida ocidentalizado e está associado a dietas ricas em gordura animal, baixa atividade física e obesidade (DEVERICKS *et al.*, 2022). Os fatores reprodutivos também têm demonstrado forte associação com aumento no risco do câncer de mama, particularmente a nuliparidade, a idade precoce na menarca, a idade avançada na menopausa e a idade avançada na primeira gravidez a termo (WHO, 2012).

Os fatores hormonais também estão relacionados com o risco aumentado do câncer de mama. Níveis elevados de estrógenos e progesterona no sangue de

mulheres em pós-menopausa estão relacionados a um risco aumentado do câncer de mama (GROUP, 2002). Os níveis elevados de estradiol folicular também correlacionaram com risco aumentado do câncer de mama em mulheres em pré-menopausa. O uso de contraceptivo oral com base combinada de estrogênio e progestina (progesterona sintética) tanto em usuárias atuais quanto em usuárias recentes tem apresentado um baixo risco relativo do câncer de mama que desaparece progressivamente dentro de 5 a 10 anos após o encerramento do uso (HULTSTRAND *et al.*, 2022). Quanto a terapia de reposição hormonal pós-menopausa, pacientes que fazem o uso atual ou que fizeram uso recente da reposição hormonal apenas com estrógenos aumenta o risco relativo do câncer de mama em relação a mulheres que nunca usaram o tratamento (WHO, 2012).

O câncer de mama também está associado a fatores hereditários. Pacientes com histórico familiar, principalmente relacionado ao primeiro grau de parentesco, apresentam um risco maior de apresentar um câncer de mama (BREWER *et al.*, 2017). Aproximadamente 10 a 15% dos cânceres de mama estão associados a síndromes hereditárias e a maioria desses está associada a mutação deletéria dos genes BRCA1 e BRCA2 (BUYS *et al.*, 2017; HASSON *et al.*, 2020).

Estudos epidemiológicos têm ajudado na análise dos fatores de risco associado a pacientes jovens do câncer de mama, incluindo variações de raça/etnia e de risco familiar aumentado. Nos Estados Unidos foi demonstrado que entre as mulheres abaixo dos 35 anos, a incidência de câncer de mama foi mais alta entre as mulheres negras (SHOEMAKER *et al.*, 2018), bem como se verificou uma maior frequência do câncer de mama hereditário, incluindo mutações nos genes BRCA1 e BRCA 2 (RUMMEL *et al.*, 2017). Apesar destas associações com fatores de risco específicos, a idade jovem tem atuado como um fator independente de prognóstico ruim tal como tempo de recorrência, metástase à distância e sobrevida (HAN *et al.*, 2004; GNERLICH *et al.*, 2009; KATAOKA *et al.*, 2016; LIAN *et al.*, 2017; ZIMMER *et al.*, 2017; OLTRA *et al.*, 2019). Esses dados demonstram que as características clinicopatológicas e os fatores de risco do câncer de mama diferem nas mulheres jovens, sugerindo uma entidade patológica distinta.

Um estudo buscando as bases genéticas para caracterizar os tumores de mama em mulheres jovens utilizou a análise de enriquecimento a partir de um conjunto de 10.000 genes (ANDERS *et al.*, 2008). Neste estudo, os pesquisadores

identificaram um conjunto de 367 genes significativamente distintos nos tumores do grupo jovem ( $\leq 45$  anos) não compartilhados com o grupo das mulheres idosas ( $\geq 65$  anos). Mais recentemente, Tsai *et al.* (2018) descobriram que pacientes jovens com câncer de mama apresentavam maiores expressões de determinados microRNAs conservados ao longo da evolução que poderiam direcionar alguns genes a iniciar a transformação maligna neste grupo de faixa etária.

Embora nos últimos anos se tenha estudado as bases genéticas e epigenéticas que possam justificar o prognóstico ruim no câncer de mama em mulheres jovens, o papel do microambiente imunológico nesse processo, curiosamente, não tem sido abordado.

### 1.3 Características clínicas do câncer de mama

O sinal clínico mais comumente observado no carcinoma de mama invasivo é a presença de nódulo palpável na mama, embora possam ocorrer outros sinais clínicos tais como alteração no tamanho e forma da mama, retração da pele da mama, alteração na textura e cor da pele, retração ou inversão do mamilo, descarga de mamilo e a presença de dor e edema local (WHO, 2012; ZHANG *et al.*, 2018). A maioria dos cânceres de mama é unifocal (cerca de 90%) e pode ocorrer em qualquer quadrante da mama, com maior frequência no quadrante lateral superior (RUMMEL, 2015). Aproximadamente 62% dos cânceres de mama nos EUA estão confinados a mama no momento do diagnóstico, enquanto um adicional de 31% já se encontra espalhado para os linfonodos. Apenas 6% dos cânceres de mama apresentam metástase a distância no momento do diagnóstico (WAKS; WINER, 2019).

Muitos desses sinais clínicos observados no câncer de mama, no entanto, podem ocorrer também nas condições mamárias benignas. Por isso, é importante a realização de exames complementares para o diagnóstico conclusivo. O método de diagnóstico mais recomendado é a avaliação através do “triplo teste” que combina uma avaliação clínica (histórico e exame clínico da mama), uma imagem radiológica (ultrassonografia, mamografia ou ressonância magnética) e uma biopsia pouco invasiva (citologia aspirativa por agulha fina ou biopsia por agulha grossa), alcançando um valor preditivo positivo de 100% (KARIM *et al.*, 2020).

Para pacientes jovens abaixo dos 40 anos, o exame de mamografia não



fornece resultados confiáveis na detecção e diagnóstico de nódulos mamários. O tecido mamário de mulheres jovens é mais denso e com predomínio de tecido glandular, tornando a mamografia um método diagnóstico pouco sensível (CHECKA *et al.*, 2012). A baixa incidência do câncer de mama nesta faixa etária, a baixa sensibilidade da mamografia e os riscos associados a exposição de irradiação não trazem benefícios para a inclusão de mulheres jovens no programa de rastreamento regular com testes de imagens (YAFFE; MAINPRIZE, 2011). Assim, o diagnóstico de triagem em mulheres jovens é normalmente realizado por palpação, seja pelo autoexame ou exame clínico de rotina. Ao primeiro sinal ou suspeita, segue-se o diagnóstico segundo a abordagem do teste triplo, à semelhança das outras faixas etárias (RADECKA; LITWINIUK, 2016).

#### **1.4 Características microscópicas**

Os carcinomas mamários são considerados um grupo heterogêneo de doenças com subtipos patológicos variados com diferentes padrões histológicos, diferentes apresentações clínicas e prognósticos. Do ponto de vista microscópico, o câncer de mama pode ser classificado em subgrupos de acordo com o grau e o tipo histológico (ELSTON; ELLIS, 1991; WEIGELT *et al.*, 2010; WHO, 2019).

O sistema de graduação histológica de Nottingham (SGN) modificado do sistema Scarff-Bloom-Richardson emprega uma escala de três graus que estratificam os pacientes do câncer de mama em grupos de prognóstico bom, moderado e pobre (ELSTON; ELLIS, 1991). O SGN é baseado na avaliação de três características morfológicas: (a) grau de formação tubular, (b) pleomorfismo nuclear e (c) índice mitótico (WHO, 2012). O SGN está fortemente associado a sobrevida de pacientes com carcinoma de mama invasivo (ARAKHA, 2010; JAROENSRI *et al.*, 2022). Além disso, o SNG em combinação com o tamanho tumoral e o status nodal formam o Índice Prognóstico de Nottingham (IPN) que consegue prever o resultado clínico, bem como, suportar a decisão clínica no tratamento do câncer de mama, principalmente em relação ao uso da terapia neoadjuvante (LEE; ELLIS, 2008; MOKARIAN *et al.* 2015)

Os tipos histológicos do câncer de mama referem-se aos padrões morfológicos

que são bastante variados e estão associados com distintas apresentações clínicas e prognósticos específicos (LI *et al.*, 2005; WHO, 2019). O tipo histológico mais comumente encontrado é o carcinoma de mama invasivo de tipo não especial (CI - TNE), previamente conhecido por carcinoma ductal invasivo sem outra especificação, correspondendo a aproximadamente 80% de todos os cânceres de mama (WHO, 2019). Recentemente, a nova classificação do tumor de mama da Organização Mundial da Saúde 5ª edição considerou alguns tipos raros de carcinomas como sendo partes do espectro de diferenciação do carcinoma de mama invasivo de tipo não especial. Assim, no diagnóstico de carcinoma mamário invasivo de tipo não especial (CI-TNE) foram incorporados os seguintes padrões morfológicos especiais: o carcinoma invasivo com diferenciação neuroendócrina, o carcinoma com células gigantes tipo osteoclasto, o carcinoma medular, o carcinoma pleomórfico, o padrão coriocarcinomatoso, o carcinoma melanótico, o carcinoma oncocítico, o carcinoma rico em lipídeos, o carcinoma de células claras/rico em glicogênio e o carcinoma sebáceo. Os demais tipos específicos incluem o carcinoma lobular invasivo, o carcinoma tubular, o carcinoma cribriforme, o carcinoma metaplásico, o carcinoma mucinoso, o cistoadenocarcinoma mucinoso, o carcinoma micropapilar invasivo, o carcinoma com diferenciação apócrina, o carcinoma metaplásico, o carcinoma de células acinares, o carcinoma cístico adenoide, o carcinoma secretório, o carcinoma mucoepidermoide, o adenocarcinoma polimórfico e o carcinoma de células altas com polaridade reversa (WHO, 2019). Embora a caracterização histomorfológica dos cânceres de mama tenha colaborado com taxonomia do câncer de mama, ela apresentou uma contribuição limitada no manejo clínico das pacientes. Isso porque a vasta maioria dos tumores (70 a 80%) se restringem a duas classes principais, nomeadamente o carcinoma invasivo de tipo não especial e o carcinoma lobular invasivo. Essa divisão agrupa, dentro de uma mesma classe, tumores com diferentes perfis biológicos e clínicos. Assim, a classificação histomorfológica acaba tendo uma contribuição restrita tanto para definir a conduta terapêutica como para prever o resultado clínico (ZARDAVAS *et al.* 2015).

## 1.5 Características imuno-histoquímicas

No estudo do câncer de mama, as expressões imuno-histoquímicas de quatro biomarcadores a saber, o receptor de estrógeno (RE), o receptor de progesterona (RP), o receptor tipo 2 de crescimento epidérmico humano (HER2) e o Ki-67 são considerados fatores prognósticos e preditivos importantes (GOLDHIRSCH *et al.*, 2009).

A presença de RE em cânceres de mama invasivos está associada com prognósticos mais favoráveis, incluindo melhor sobrevida global (RYU *et al.*, 2018; KIM *et al.*, 2022). Além disso, a presença de receptores hormonais (RH) implica numa resposta a terapia hormonal, sendo recomendado a inclusão desses pacientes no plano de terapia endócrina adjuvante (WHO, 2012). O *cut-off* para positividade de RE é 1% (HAMMOND *et al.*, 2010; BARTLETT *et al.*, 2011). Através da imuno-histoquímica verificou-se que entre 70 e 80% dos cânceres de mama invasivos expressam RE nuclear em uma proporção variando de 1% a 100% das células (WHO, 2012). Estudos mostram que as mulheres jovens (abaixo de 35 anos) apresentam maior frequência de tumores RE negativos em relação às mulheres mais velhas (KATAOKA *et al.*, 2016; LIAN *et al.*, 2017; ZIMMER *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2018).

O RP é expresso em cerca de 60 a 70% dos tumores de mama invasivo, com expressões que podem variar de 0 a 100% das células neoplásicas (WHO, 2012). Existe uma relação direta positiva entre o nível de expressão de RP e a resposta a hormonioterapia (CUI *et al.*, 2005). A baixa expressão de RP está associada a tumores mais agressivos (LIU *et al.*, 2009). A relação entre a expressão do RP e a idade ao diagnóstico tem apresentado resultados contraditórios (LIAN *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2018; SHAH *et al.*, 2022).

A expressão de HER2 é primariamente determinada por IHQ, podendo também ser empregada técnicas de hibridização *in situ* fluorescente (FISH), com resultados equivalentes. Aproximadamente 15 a 20% dos pacientes com câncer de mama tem superexpressão de HER2 e pacientes com altos níveis de HER2 têm prognóstico pior do que aqueles com HER2 negativo (HARTLEY *et al.*, 2006). Hoje em dia, o principal objetivo de se avaliar a expressão de HER2 é a seleção de candidatos ao tratamento com terapia alvo (HORISAWA *et al.*, 2021).

## 1.6 Subtipos moleculares

As técnicas de microarranjos de DNA e RNA permitiram a caracterização genética dos tumores, criando-se assim um retrato ou assinatura de expressão gênica dos tumores (SCHENA *et al.*, 1995). Através de técnicas de agrupamentos hierárquicos, pesquisadores identificaram inicialmente cinco tipos moleculares: Luminal A, Luminal B, superexpressão de HER2, basal símile e mama-normal-símile (PEROU *et al.*, 2000; SØRLIE *et al.* 2003). Logo, os subtipos moleculares foram associados a características clinicopatológicas de interesse prognóstico e valores preditivos (SØRLIE *et al.* 2001; van't VEER *et al.*, 2002). Os altos custos e as exigências técnicas para determinação da expressão gênica limitaram o seu emprego na prática clínica, sobretudo nos países pouco desenvolvidos. Pesquisadores propuseram painéis imunohistoquímicos que pudessem reproduzir, com certa aproximação, os perfis de expressão gênica (NIELSEN *et al.*, 2004; CHEANG *et al.*, 2009; HUGH *et al.*, 2009; BLOWS *et al.*, 2010). Em 2011, na 12<sup>ª</sup> Conferência Internacional de St Gallen foram definidos os cinco subtipos moleculares do câncer de mama baseado em aspectos clinicopatológicos: o luminal A (RE e/ou RP positivos/ HER2 negativo / Ki67 baixo (<14%); o luminal B HER2 negativo (RE e/ou RP positivos / HER2 negativo / Ki67  $\geq$ 14%), o luminal B HER2 positivo (RE e/ou RP positivos / quaisquer Ki67 / HER2 superexpresso ou amplificado); o HER2 superexpresso não luminal (HER2 superexpresso ou amplificado / RE e RP ausentes); e o Triplo negativo (RE e RP ausentes e HER2 negativo) (GOLDHIRSCH *et al.*, 2011). Dois anos depois, na 13<sup>ª</sup> Conferência Internacional de San Gallen em 2013, houve ajustes nos critérios de distinção entre os subtipos luminal A e luminal B HER2 negativo baseado nível de receptores de progesterona. Assim, os pacientes RE positivos e HER2 negativos que apresentarem RP negativos ou RP baixo e/ou Ki-67 baixo foram classificados como luminal B/ HER2 negativo (GOLDHIRSCH *et al.*, 2013). As mulheres jovens abaixo de 35 anos apresentam maior prevalência de tumores não-luminais, HER2 superexpresso e Triplo negativo em relação a mulheres acima dos 40 anos (ZHANG *et al.*, 2018, PANDIT *et al.*, 2020; ORLANDINI *et al.*, 2021; EIRIZ *et al.*, 2021; YANG *et al.*, 2022).

## 1.7 Tratamento

Os objetivos do tratamento variam de acordo com o estágio do câncer de mama. Para os pacientes com estágios invasivos iniciais (I e II) e estágios localmente avançados (III), o propósito da terapia é a erradicação do tumor das mamas e linfonodos regionais, bem como prevenir a recorrência metastática (KURIAN; CARLSON, 2009). Nestes casos, o tratamento possui três fases. Na fase pré-operatória utilizam-se terapias endócrinas sistêmicas para os pacientes com responsividade endócrina, ou seja, aqueles com tumores RE positivos e a imunoterapia para os casos de tumores HER2 positivos. A quimioterapia pré-operatória pode ser utilizada nos pacientes HER2 positivos, sendo a única opção para os pacientes com tumores Triplo negativo (GOLDHIRSCH *et al.*, 2013). A fase cirúrgica apresenta duas opções de abordagem, a saber, a excisão tumoral conservativa com radioterapia ou a mastectomia, ambas com taxas de sobrevida semelhantes. A excisão cirúrgica dos linfonodos sentinela é realizada quando há evidências de comprometimento nodal, servindo tanto para propósito terapêutico quanto para o estadiamento da neoplasia (WAKS; WINER, 2019). A fase pós-operatória inclui radioterapia, terapia endócrina, imunoterapia e quimioterapia. O uso de bifosfonado adjuvante visando a proteção óssea e redução de risco de fratura é empregado sobretudo em pacientes em menopausa com câncer de mama não metastático (DHESY-THIND *et al.*, 2017). O câncer de mama em fase IV (metastático) é tratável, mas não curável. Os objetivos do tratamento nestes casos incluem melhorar a duração e a qualidade de vida. O tratamento inclui a hormonioterapia, quimioterapia e terapia-alvo molecular. O uso do procedimento cirúrgico em pacientes metastáticos tem apresentado dados inconsistentes com relação aos benefícios no prognóstico e o seu uso tem se aplicado em casos específicos (CAMERON, 2015; SHIEN; IWATA, 2017; TAKAYUKI *et al.*, 2022).

As pacientes jovens são geralmente tratadas de forma semelhante às demais faixas etárias, como descrito acima. Contudo, podemos destacar algumas considerações específicas para idade, incluindo opções para preservação de fertilidade antes do tratamento sistêmico, bem como um suporte psicológico para pacientes e familiares (RADECKA *et al.*, 2016).

A imunoterapia no câncer de mama é uma modalidade terapêutica inovadora

que tem apresentado significantes progressos, especialmente nos tumores Triplo negativos, onde se verificam maior imunogenicidade, maior expressão de PD-L1 e maior recrutamento de linfócitos infiltrantes do tumor (BASU *et al.*, 2019). Em destaque estão a terapia alvo com inibidores de checkpoint (SWOBODA; NANDA, 2018), a terapia com receptor quimérico de antígeno de células T (CART-T) (TCHOU *et al.*, 2017; XIE *et al.*, 2020) e as vacinas de CDs (SANTISTEBAN *et al.*, 2021). A vacina de CDs ganha destaque nesse contexto devido à sua notável capacidade de apresentação de antígeno e tem sido empregada também em câncer de mama HER2 superexpresso (LOWENFELD *et al.*, 2017). Apesar do progresso, a imunoterapia apresenta enormes desafios, sobretudo o obstáculo do microambiente imunossupressivo criado pelo próprio tumor (AUDIGER *et al.*, 2017).

## 1.8 Prognóstico

Os cânceres de mama quando diagnosticados nos estágios iniciais, de modo geral, apresentam um prognóstico bastante favorável. Nos países desenvolvidos a sobrevida estimada após 5 anos do diagnóstico está acima de 85%. Já nos países em vias de desenvolvimento, a sobrevida estimada de 5 anos é menor, variando de 64,8 a 68,7% (ALLEMANI *et al.*, 2018). O efeito dos programas de triagem, a evolução do tratamento, incluindo o uso de terapia hormonal adjuvante, a quimioterapia de segunda e terceira gerações, os inibidores de aromatase e a terapia-alvo molecular, tudo isso tem contribuído para aumentar a sobrevida do paciente com câncer de mama. O tamanho tumoral e o comprometimento nodal ainda figuram entre as principais características tumorais de importância prognóstica mesmo na atual era dos tratamentos mais efetivos (SAADATMAND *et al.*, 2015). Além desses fatores, o grau tumoral e a expressão de RH e do HER2 também influenciam a sobrevida das pacientes. O câncer de mama é considerado uma patologia bastante heterogênea e mesmo pacientes com características prognósticas similares podem apresentar diferentes resultados clínicos. O interessante é que o fator idade ao diagnóstico também tem sido considerado um fator prognóstico independente para sobrevida específica do câncer de mama, com mulheres abaixo de 35 anos apresentando piores prognósticos (KATAOKA *et al.*, 2016; GNERLICH *et al.*, 2009).

## 1.9 Imunopatologia o Câncer de Mama

É reconhecido que o desenvolvimento do câncer de mama e o seu prognóstico são influenciados não apenas pelas várias mutações que ocorrem nas células tumorais, mas também pelo status do sistema imune no microambiente tumoral (LANDSKRON *et al.*, 2014). A ideia de que o próprio sistema imune poderia modelar o progresso do câncer surgiu com o conceito da imunoeedição (DUNN *et al.*, 2002). Este processo dinâmico, onde o sistema imune não apenas protege contra o desenvolvimento do câncer, mas também modela as características dos tumores emergentes, é composto de três fases: eliminação, equilíbrio e escape (KIM *et al.*, 2007; MITTAL *et al.*, 2014). A fase de eliminação compreende o processo de imunovigilância, onde o sistema imune reconhece as células neoplásicas transformadas e iniciam uma resposta visando à eliminação das células transformadas. Nesta fase o sistema imune elimina células imunogênicas permitindo a emergência de variantes com baixa imunogenicidade e resistentes ao ataque imune. Na segunda fase, ou fase de equilíbrio, as células tumorais que escapam da fase de eliminação e apresentando um fenótipo não imunogênico são selecionadas para o crescimento. Nesta fase, as células residuais tumorais carregam mutações resistentes e de baixa imunogenicidade, mantidas sob controle do sistema imune para não progredir no desenvolvimento nem na ocorrência de metástases. Na terceira fase ou fase do escape, as células tumorais variantes selecionadas durante a fase equilíbrio quebram as defesas do sistema imune com várias alterações genéticas e epigenéticas conferindo resistência à detecção imune. É, portanto, bem aceito que o mecanismo de imunoeedição determina a relação entre o sistema imune e a progressão tumoral. Neste sentido, é plausível a reflexão de que o sistema o imune tenha um papel na indução de características fenotípicas de prognóstico ruim para os tumores de mama em mulheres jovens.

Tradicionalmente, o câncer de mama tem sido considerado um tumor pouco imunogênico (DENKERT, 2014; BAYRAKTAR *et al.*, 2019). Contudo, os tumores de mamas são infiltrados por uma rede complexa de células imunes que influencia o seu desenvolvimento, progressão e metástase (FRIDMAN *et al.*, 2012). Os componentes imunes do microambiente tumoral no câncer de mama consistem predominantemente de linfócitos T CD4 e CD8, linfócitos B, células dendríticas (CDs), monócitos,

macrófagos, células, células NK e linfócitos T regulatórios (Tregs) (RUFFELL *et al.*, 2011; SEMIGLAZOV *et al.*, 2022). Alguns tumores de mama apresentam substancial infiltração de linfócitos, particularmente o subtipo Triplo negativo e o HER2 positivo, sendo estes considerados mais imunogênicos do que os carcinomas luminais A (GARCÍA-TEIJIDO *et al.*, 2016). Os linfócitos infiltrantes do tumor (TILs) têm sido associados com melhora na sobrevida, sobretudo nos casos de Triplo negativo (DENKERT *et al.*, 2010).

Além da baixa imunogenicidade, os cânceres de mama apresentam mecanismos de escape tumoral que diminuem o reconhecimento imune ou promovem a imunossupressão. Os principais mecanismos de evasão do sistema imune no câncer de mama são: 1) Expressão de moléculas inibitórias [Ligante 1 de morte celular programada (PDL-1); Antígeno 4 de linfócito T citotóxico (CTLA-4)]; 2) Infiltração do microambiente tumoral por uma população de células supressivas [Tregs, Células supressoras derivadas da linhagem mieloide (MDSC) e Macrófagos associados ao tumor (TAM)]; 3) Presença de fatores imunossupressivos [Interleucina 10 (IL-10), Fator transformador de crescimento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), Idoleamina 2,3 dioxigenase (IDO)]; 4) Mudanças no status de maturação das CDs (BATES *et al.*, 2018).

A baixa imunogenicidade e os mecanismos de escape têm levado a numerosos estudos a explorar os potenciais modelos de imunoterapia visando melhores resultados para as pacientes do câncer de mama. Neste contexto, as CDs possuem um papel-chave devido a sua habilidade para apresentação cruzada de antígenos e promoção da ativação de linfócitos específicos que irão atacar as células neoplásicas (CUNHA, 2014; SALEMME *et al.*, 2021; SHAHVERDI *et al.*, 2022).

## 1.10 Células Dendríticas

As CDs são células do sistema imune inato uma vez que elas reconhecem e respondem a padrões moleculares associado a patógenos (PAMPs) e padrões moleculares associados ao dano (DAMPs) moldando a resposta inflamatória. A CD é conceituada como a mais eficiente célula apresentadora de antígeno (APC) com capacidade de capturar, processar e apresentar diferentes tipos de antígenos, incluindo antígenos tumorais, para os linfócitos T *naive* (MILDNER; JUNG, 2014; SCHULTZE; ASCHENBRENNER, 2019; ZANNA *et al.*, 2021). Assim, no microambiente tumoral, as CDs fagocitam as células neoplásicas mortas ou debris



celulares e transportam os antígenos associados ao tumor para os linfonodos drenantes, onde apresentam estes antígenos para os linfócitos T específicos, ativando-os para respostas imunes específicas (BANCHEREAU; STEINMAN, 1998; KVEDARAITE *et al.*, 2022). A resposta imune adaptativa representada pelas células B e T é dependente da presença de CDs para elicitar uma resposta imune específica, podendo induzir tanto imunidade quanto tolerância.

As CDs se originam na medula óssea a partir de células-tronco hematopoiéticas pluripotentes. Estas células dão origem a duas linhagens de CDs: mieloides (CDmi) e plasmocitóides (CDp) (BANCHEREAU *et al.*, 2000; SHORTMAN; LIU, 2002; Amon *et al.*, 2020). A linhagem mielóide dá origem às chamadas CD convencionais, incluindo as células de Langerhans (CLs), as células dendríticas intersticiais (CDi) e as CDs derivadas de monócitos (CDmo). Já as CDp, chamada assim pela morfologia similar com plasmócitos, representam maior fonte de citocinas antivirais, como o interferon do tipo I, respondendo precocemente às infecções virais. Entretanto, elas também agem como células apresentadoras de antígenos (APC) e controlam respostas mediadas por células T (COLONNA *et al.*, 2004; AMON *et al.*, 2020).

### **1.11 As células dendríticas e o câncer de mama**

Um estudo específico com o câncer de mama sugeriu uma correlação negativa entre a infiltração de células dendríticas e o grau de diferenciação histológica, bem como uma correlação positiva com o tamanho do tumor, com o comprometimento nodal e as expressões de RE e RP (LESPAGNARD, 1999). De modo geral, a presença de células dendríticas nos tumores tem sido associado com melhores prognósticos, recorrência tumoral reduzida, poucas metástases e taxa de sobrevida geral aumentada (FRIDMAN *et al.*, 2012).

Posteriormente, foi observado que a eficácia e o sucesso final das interações entre células tumorais e a resposta imune depende do estado de maturação alcançado pelas células dendríticas após o seu contato com as células cancerosas. De modo geral, as células dendríticas maduras promovem fortemente a imunidade

anti-câncer enquanto as células dendríticas imaturas facilitam a tolerância para o câncer (DUDEK *et al.*, 2013). A principal característica das células dendríticas imaturas é sua capacidade de endocitose que é mantida continuamente no seu curso estável. As CD imaturas (CDi) expressam baixo nível de complexo de histocompatibilidade principal (MHC) e de moléculas co-estimulatórias, o que as tornam incapazes de ativar os linfócitos T. A ativação das CDs com diferentes estímulos de maturação está associada com supregulação moléculas de superfície tais como o MHC de classe II, moléculas co-estimulatórias, moléculas de adesão, receptor de quimiocina 7 motif C-C (CCR7), necessárias para a migração aos linfonodos e ativação de células T (BANCHEREAU *et al.*, 2000). Foi demonstrado que as células dendríticas imaturas infiltram o carcinoma mamário primário, enquanto as células dendríticas maduras são encontradas apenas na periferia do tumor (BELL *et al.*, 1999). A relevância clínica dessas observações tem sido demonstrada por estudos certificando uma correlação direta entre a presença de células dendríticas maduras no microambiente tumoral e as taxas de sobrevida (IWAMOTO *et al.*, 2003).

Além do status de maturação das células dendríticas, os subconjuntos específicos de células dendríticas presentes no ambiente tumoral também podem interferir no prognóstico no tumor de mama (FAGET *et al.*, 2012). Geralmente as CDs mieloides exibem efeitos imunogênicos, enquanto as CDs plasmocitoides (CDp) estão envolvidas com regulação tolerogênica (SISIRAK *et al.*, 2012). No carcinoma de mama, uma forte correlação foi observada entre a infiltração por CDp e baixa sobrevivência, sugerindo uma contribuição destas células imunes na progressão tumoral (TREILLEUX *et al.*, 2004).

Com intuito de compreender melhor o motivo pelo qual pacientes jovens com câncer de mama apresentam piores prognósticos quando comparados com a sua contrapartida de mulheres idosas, nós investigamos o padrão de resposta das células dendríticas no microambiente tumoral nos cânceres de mama em mulheres de diferentes faixas etárias. Para o melhor do nosso conhecimento, não foram encontrados na literatura estudos específicos sobre o perfil imunológico no microambiente tumoral do câncer de mama em diferentes faixas etárias. O entendimento da interface das CDs com as células cancerígenas e as suas funções na imunovigilância tumoral durante a evolução ontogênica do sistema imune pode trazer luz ao conhecimento patogenia do câncer de mama, sobretudo no grupo de pacientes jovens, tanto do ponto de vista de alvos terapêuticos, quanto pela determinação de fatores prognóstico.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Estudar as características clinicopatológicas do carcinoma mamário invasivo de tipo não especial (CI-TNE) por faixa etária, em correlação com o perfil imunohistoquímico dos subgrupos de células dendríticas infiltrados no microambiente tumoral, visando o melhor entendimento da inter-relação sistema imune, câncer e idade, com impacto na patogênese e prognóstico.

### 2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Investigar as características clinicopatológicas do CI-TNE por faixa etária, incluindo lateralidade, grau histológico de Nottingham e presença de necrose tumoral.

2.2.2 Analisar o sistema de estadiamento TNM no CI-TNE por faixa etária.

2.2.3 Examinar o estágio anatômico no CI-TNE por faixa etária.

2.2.4 Caracterizar a expressão dos receptores hormonais e do receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano no CI-TNE por faixa etária.

2.2.5 Caracterizar os subtipos moleculares do CI-TNE por faixa etária.

2.2.6 Descrever o perfil imunofenotípico das células dendríticas, incluindo o seu *status* de maturação ou ativação, no microambiente tumoral do CI-TNE por faixa etária.

2.2.7 Estudar a correlação do perfil imunofenotípico das células dendríticas com variáveis clinicopatológicas no CI-TNE por faixa etária.

2.2.8 Estabelecer fatores prognósticos no CI-TNE por faixa etária.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Caracterização Do Estudo

O presente trabalho refere-se a uma pesquisa descritiva transversal na qual analisamos o perfil de CDs no microambiente tumoral do câncer de mama em diferentes faixas etárias e em correlação com os dados clinicopatológicos.

#### 3.2 Casuística

Neste estudo utilizamos casos de CI-TNE obtidos dos arquivos do Serviço de Patologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (SERPAT/HCFMRP/USP).

Foram selecionados casos com o primeiro diagnóstico de CI -TNE no período de 2005 a 2017. Inicialmente foram selecionados um total de 462 casos clínicos. A partir desses, foram excluídos os casos que apresentaram informações clinicopatológicas incompletas, bem como casos submetidos a terapias neoadjuvantes (quimioterapia e/ou radioterapia). Ao final, consideramos 431 casos distribuídos em três grupos, sendo 109 pacientes com idade menor ou igual 35 anos (Grupo 1 - Mulheres jovens), 118 pacientes com idade entre 36 e 50 anos (Grupo 2- Mulheres adultas) e 204 pacientes com idade acima de 50 anos (Grupo 3 -Mulheres idosas).

**Tabela 1.** Distribuição dos grupos de faixas etárias.

GRUPOS	Faixa etária	Total de casos	Percentual
G1	≤35 anos	109	25,1%
G2	36 a 50 anos.	118	27,3%
G3	>50 anos	204	47,3%

G1 – Mulheres jovens; G2 – Mulheres adultas; G3 – Mulheres idosas.

### 3.3 Caracterização dos dados clinicopatológicos

Os dados clinicopatológicos foram obtidos através da análise dos prontuários dos pacientes obtidos no Serviço de Arquivo Médico (SAME) do Hospital das Clínicas-FMRP/USP. Foram coletadas informações sobre a lateralidade do tumor, tamanho do tumor, presença de necrose, grau histológico, expressão de RE e RP, expressão do HER2, sistema TNM, estadiamento clínico, subtipos moleculares e os tempos para os desfechos clínicos referentes a sobrevida específica para o câncer de mama (SEC) e a sobrevida livre de progressão (SLP).

Quanto a lateralidade, foi registrado o tumor unilateral direito, unilateral esquerdo, bilateral sincrônico e bilateral metacrônico. Nos casos dos tumores bilaterais, foi considerado sincrônico se o tumor contralateral ocorreu dentro de 6 meses do tumor primário. Foi considerado bilateral metacrônico se o tumor contralateral ocorreu após 6 meses do tumor primário (KAPPIKERI; KRIPLANI, 2015).

Os dados sobre o tamanho do tumor foram colhidos no prontuário das pacientes. Para os tumores com dimensões que possam ser submetidos em um único bloco de parafina, utilizamos os dados do exame microscópico. Para aqueles tumores maiores que não puderam ser submetidos em um único bloco de parafina, utilizamos os dados do exame macroscópico.

O grau histológico de Nottingham foi definido no momento do diagnóstico segundo a graduação de Scarff-Bloom e Richardson modificada por Elston e Ellis (ELSTON; ELLIS, 1991; WHO, 2019).

As expressões do RE e RP foram definidas por imuno-histoquímica (IHQ), sendo considerado positivo qualquer caso com  $\geq 1\%$  das células imunocoradas (BARNES *et al.*, 1996; ALLISON *et al.*, 2020).

A avaliação de HER2 também foi definida por IHQ no momento do diagnóstico. Os escores para HER2 foram aplicados em uma escala de 0 a 3+, de acordo com a recomendação do Hercept test <sup>®</sup> (DAKO) e aprovado pela Food and Drugs Administration (FDA) EUA. Para a definição dos escores na IHQ foi considerado tanto a intensidade de expressão quanto a porcentagem de células positivamente coradas. Um escore de 3+ significa coloração de membrana intensa e uniforme em  $>10\%$  das células tumorais invasivas. O escore 2+ é definido como reatividade de membrana

fraca a moderada em >10% das células tumorais invasivas. O escore de 1+ é definido como reatividade de membrana apagada e quase impercetível em >10% das células tumorais invasivas. O escore 0 é definido como ausência de reatividade de membrana nas células tumorais invasivas. Assim, o escore 3+ é considerado HER2 positivo e os scores 0 e 1 são considerados HER2 negativos. O escore 2+ é classificado como reatividade limítrofe (inconclusiva) sendo adicionalmente submetido ao teste molecular pela técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH). O teste foi considerado negativo (ausência de amplificação do gene HER2) ou positivo (amplificação do gene HER2) de acordo com a recomendação da American Society of Clinical Oncology (ASCO) e College of American Pathologist (CAP) (WOLFF *et al.*, 2007).

A extensão anatômica da neoplasia foi definida por uma simplificação do sistema TNM (estadiamento anatômico) de acordo com os parâmetros estabelecidos pela 7ª Edição da American Joint Committee on Cancer AJCC Manual do estadiamento câncer (EDGE *et al.*, 2010). Neste sistema, avaliamos o tamanho do tumor primário (categoria T), status dos linfonodos regionais (categoria N) e presença de metástases à distância (categoria M). Para análise do tamanho do tumor, utilizamos subconjuntos numéricos que indicam a extensão progressiva da doença maligna, onde T0 significa não haver evidência de tumor primário; T1 significa que a maior extensão do tumor é menor ou igual a 2 cm; T2, o tumor é maior que 2,0 cm e menor ou igual a 5,0 cm. Em T3 o tumor é maior que 5,0 cm. Em T4, o tumor apresenta qualquer tamanho, mas apresenta extensão direta a parede torácica e/ou pele. Para o status dos linfonodos regionais, o N0 significa que o câncer não se espalhou para os linfonodos regionais. O N1, o câncer disseminou-se para 1 a 3 linfonodos axilares e/ou linfonodos interno. No N2, o câncer disseminou-se para 4 ou 9 linfonodos axilares, ou para os linfonodos mamários internos. No N3, verificam-se metástases em linfonodo(s) infraclavicular(es) ipsilateral(is) com ou sem envolvimento de linfonodo axilar nível I, II; ou há metástase(s) em linfonodos mamários internos clinicamente detectado(s) na presença de um ou mais linfonodos axilares positivos dos níveis I e II; ou há metástases em linfonodo(s) supraclavicular(es) ipsilateral(is) com ou sem envolvimento de linfonodo axilar ou mamário interno. Para o status de metástase à distância, temos M0 para os casos sem metástase a distância e M1 para os casos de metástases à distância.

Para a definição do estágio anatômico utilizamos os parâmetros estabelecidos pela 7ª Edição da American Joint Committee on Cancer AJCC Manual do

estadiamento câncer (EDGE *et al.*, 2010). Para fins de tabulação e análise, nós utilizamos preferencialmente o estadiamento patológico em detrimento do estadiamento clínico. Os dados do estadiamento foram estabelecidos durante a consulta clínica inicial após o diagnóstico histopatológico ter sido confirmado. As consultas na instituição do estudo são realizadas por um médico especialista (mastologista) responsável pela anotação dos dados no prontuário médico. De modo geral, os tumores localizados no órgão de origem foram classificados como estágios I e II, os tumores com disseminação localmente extensa, particularmente aos linfonodos regionais, são classificados como estágio III e aqueles com metástases distantes, como estágio IV.

Para os subtipos moleculares, os casos foram classificados em quatro subtipos: (1) Luminal A (RE positivo e/ou RP positivo, HER2 negativo e graus Nottingham 1 e 2; (2) Luminal B (RE positivo e/ou PR positivo, HER2 negativo e grau Nottingham 3; ou RE positivo e/ou RP positivo e HER2 positivo); (3) HER2 superexpresso (RE negativo, RP negativo e HER2 positivo); e (4) Triplo negativo (RE negativo, RP negativo e HER2 negativo (GOLDHIRSCH *et al.*, 2011; COLLINS *et al.*, 2011; PARTRIDGE *et al.*, 2016).

Os desfechos clínicos utilizados no estudo de prognósticos foram a sobrevida específica para o câncer de mama (SEC) e a sobrevida livre de progressão (SLP), todos definidos segundo Gourgou-Bourgade *et al.* (2015). A SEC é a duração de tempo a partir do diagnóstico do CI-TNE até a morte devida especificamente ao câncer de mama. Os pacientes censurados foram aqueles com perda de seguimento ou que estavam vivos ao término de seguimento. A SLP é a duração de tempo a partir do diagnóstico do CI-TNE até a progressão tumoral evidente, incluindo recidiva local e regional, recidiva ou ocorrência de metástase à distância ou a morte devida especificamente ao câncer de mama. Os pacientes censurados foram aqueles com perda de seguimento ou que estavam vivos e sem progressão doença ao término do seguimento.

### 3.4. Estudo Imuno-histoquímico

#### 3.4.1. Microarranjo de tecido (TMA)

Para o estudo IHQ foram construídos a partir de fragmentos cilíndricos de amostras tumorais obtidas de 320 blocos originais ou doadores. Os blocos doadores foram avaliados quanto a quantidade e qualidade de fixação do material através da sua comparação com as respectivas lâminas originais coradas em hematoxilina e eosina (ŞTEFAN *et al.*, 2020).

#### 3.4.2 Caracterização Imuno-Histoquímica as Células Dendríticas

Os estágios de maturação e a caracterização dos subconjuntos funcionais foram avaliados com base em três grupos distintos: (I) Células de Langerhans, que representam as CDs mieloides imaturas; (II) CDs mieloides maduras e (III) CDs plasmocitoides. Esses três grupos de CDs foram definidos pela expressão de marcadores moleculares específicos através do método IHQ aplicados nas amostras de tecido armazenadas em blocos de parafina. Para as células de Langerhans, nós utilizamos os anticorpos S100, CD1a e CD207. Para as CD maduras foram empregados os anticorpos CD83 e CD208. Para a pesquisa de CD plasmocitoides foram utilizados os anticorpos CD123 e CD303.

#### 3.4.3. Técnica Imuno-Histoquímica

Cortes de 3 µm de espessura obtidas dos blocos de TMA foram colocadas sobre lâminas silanizadas. As lâminas foram desparafinadas com calor, colocando as lâminas numa estufa a 70°C por 1 hora. Em seguida, as lâminas foram submersas em xilol, em duas trocas de 10 minutos cada. Imediatamente as lâminas foram submetidas a hidratação progressiva através de soluções decrescentes de álcool a partir do



absoluto 100% com dois banhos de 10 minutos cada e passando para um banho de 10 minutos cada no álcool 90%, 70% e 50% até chegar na água destilada. A recuperação antigênica dos imunomarcadores S100 e CD208 foi realizada submetendo as lâminas na panela de pressão contendo 10 mM de solução tampão citrato de sódio (pH 6,0) por 3 minutos. Para a recuperação antigênica dos imunomarcadores CD1a, CD83, CD123, CD207 e CD303, as lâminas foram colocadas em panela de pressão elétrica por 15 minutos contendo solução tampão DAKO Target Retrieval Solution ® pH9,0 (S2367). Após a recuperação antigênica, as amostras foram resfriadas por 20 minutos e submetidas a três lavagens em água destilada. A atividade de peroxidase endógena foi bloqueada em uma solução contendo 5% de peróxido de hidrogênio por 10 minutos, sendo posteriormente lavadas em água destilada por três vezes. Em seguida, as lâminas foram submetidas a dois banhos em solução salina tamponada fosfatada (PBS) por dois minutos cada. Após, as amostras foram incubadas com os anticorpos primários (Tabela 2) a 4°C overnight (16 horas). Após a incubação com o anticorpo primário, as lâminas foram banhadas em solução de PBS, em seguida em uma solução Wash Buffer Dako® (S3008). Após a aplicação do anticorpo secundário conjugado com biotina, as lâminas foram mantidas em câmara úmida na temperatura ambiente por 30 minutos. A revelação foi obtida com o cromógeno diaminobenzidina (DAB) e contracoloração foi realizada com hematoxilina de Carazzi. Os cortes foram posteriormente desidratados em uma série de álcoois e montados em Permount (Fischer, Fairlawn, NJ). Controles positivos e negativos foram empregados em todas as reações de IHQ.

**Tabela 2** - Lista de anticorpos, clones, diluições e técnica imuno-histoquímica empregada para a caracterização de subgrupos de células dendríticas.

ANTICORPO/ FABRICANTE/CÓDIGO	CLONE	DILUIÇÃO	RECUPERAÇÃO ANTIGÊNICA	ANTICORPO 2ª
<b>S100/ Leica/ NCL-L-S100p</b>	policlonal	1:3000	Ác. Cítrico pH6 PP 3´	LSAB 30´
<b>CD1a/ DAKO/M3571</b>	010	1:400	S2367 pH9 PPE 15´	ENVISION 1 hr
<b>CD207/Monosan</b>	12D6	1:200	S2367 pH9 PPE 15´	LSAB 30´
<b>CD83/Leica/NCL-CD83</b>	1H4b	1:100	Ác. Cítrico pH6 PP 3´	LSAB 30´
<b>CD208/CD- LAMP/Dendritics/ DDX0191</b>	1010E1.01	1:500	Ác. Cítrico pH6 PP 3´	LSAB 30´
<b>CD123/ Leica/NCL-L-CD123</b>	BR4MS	1:200	S2367 pH9 PPE15´	LSAB 30´
<b>CD303/ DENDRITICS</b>	1244B3.13	1: 300 1: 500	S2367 pH9 PPE 15´	LSAB 30´

PBS/BSA: Solução de tampão fosfato salino misturado com albumina sérica bovina.

S2367: Solução de recuperação pH 9,0

LSAB: Labeled Streptavidin Biotin

PP: Panela de pressão comum.

PPE: Panela de pressão elétrica.

#### 3.4.4. Quantificação das células dendríticas no microambiente tumoral

As lâminas de TMA foram escaneadas utilizando-se um sistema de captação de imagens composto por um microscópico modelo Olympus BX 61 vs scanner ® associado ao software de imagem VS-ASW Olympus ®. As imagens foram armazenadas em formato de arquivo VSI (Virtual Slide Image). Para explorar as imagens VSI utilizamos o software de análise de imagem QuPath versão 0.3.1. (BANKHEAD *et al.*, 2017). Foram consideradas imunopositivas aquelas células que apresentaram coloração amarronzadas determinadas pelo cromógeno DAB, em estreita associação com a morfologia e também pelo formato típico das CDs em questão. Cinco áreas com maior densidade de células imunocoradas foram selecionadas manualmente por anotações retangulares específicas delimitando área de 237.000 µm<sup>2</sup> correspondente a um campo de grande aumento (400x). As células foram contadas manualmente e os valores foram registrados.

### 3.5 Análise Estatística

Para avaliar as diferenças no infiltrado de CDs imunomarcadas entre os grupos foi realizada a análise ANOVA-oneway e para evidenciar essas diferenças foi feito o pós-teste de comparações múltiplas de Tukey.

As curvas de SEC e a SLP foram estimadas utilizando a análise de sobrevivência de Kaplan-Meier. Para a comparação das curvas de sobrevidas nos diferentes grupos utilizamos o teste Log-Rank.

Todas as variações foram descritas com intervalo de confiança de 95%. O nível de significância adotado foi de 0,05. As análises foram realizadas com o software R (versão 4.1.2).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Achados clinicopatológicos por faixa etária

Os achados clinicopatológicos do CI-TNE por faixa etária são mostrados na tabela 3.

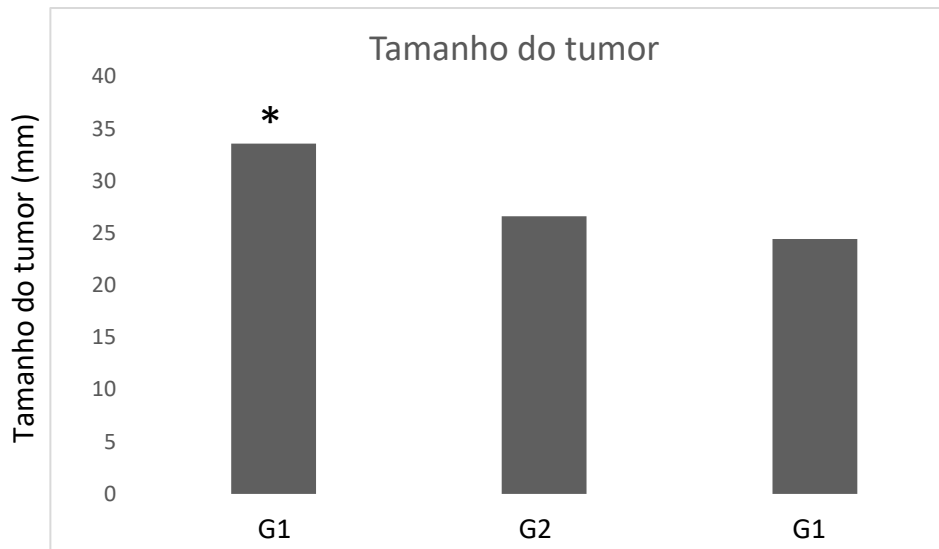
**Tabela 3** – Variáveis clínicas por faixa etária em pacientes com diagnóstico de CI-TNE

Variável	Classe	<35 Anos		Variável 36 a 50 Anos		>51 Anos		Valor P
		n (n=109)	%	n (n=118)	%	n (n=204)	%	
Lado	D	51	47,7	66	56,4	90	45,9	0,185
	E	56	52,3	51	43,6	106	54,1	
	NA	2						
T	T1	23	21,9	29	23,8	85	42,1	0,001
	T2	31	29,5	53	46,5	67	33,2	
	T3	29	27,6	18	15,8	14	6,9	
	T4	22	21	14	12,3	36	17,8	
	NA	4						
N	N0	36	34,3	49	43	107	53,2	0,007
	N1	35	33,3	43	37,7	57	28,4	
	N2	29	27,6	19	16,7	26	12,9	
	N3	5	4,8	3	2,6	11	5,5	
	NA	4						
M	M0	84	79,2	107	90,7	186	92,1	0,002
	M1	22	20,8	11	9,3	16	7,9	
	NA	3						
ESTÁGIO ANATOMICO	I	6	5,6	14	12,2	59	29,2	0,001
	II	34	31,8	51	44,3	80	39,6	
	III	44	41,1	39	33,9	48	23,8	
	IV	23	21,5	11	9,6	15	7,4	
	NA	2						
Necrose	NAO	71	82,6	87	91,6	164	91,6	0,059
	SIM	15	17,4	8	8,4	15	8,4	
	NA	23						
GRAU TUMORAL	I	10	9,3	26	22,2	55	27,1	0,003
	II	68	63,6	71	60,7	115	56,7	
	III	29	27,1	20	17,1	33	16,3	
	NA	2						
RE	NEG	46	42,6	30	25,4	53	26	0,004
	POS	62	57,4	88	74,6	151	74	
	NA	1						
RP	NEG	46	42,6	38	32,2	78	38,2	0,267
	POS	62	57,4	80	67,8	126	61,8	
	NA	1						
HER2	NEG	75	70,1	73	66,4	141	71,2	0,670
	POS	32	29,9	37	33,6	57	28,8	
	NA	2						
SUBTIPO MOLECULAR	LUMINAL_A	42	39,6	52	47,3	112	54,9	0,023
	LUMINAL_B	23	21,7	33	30	41	20,1	
	HER2	13	12,3	10	9,1	23	11,3	
	SUPEREXPRESSO	28	26,4	15	13,6	28	13,7	
	TRIPLO NEGATIVO	3						

Abreviações: D direito, E esquerdo, T extensão tamanho tumoral no sistema TMN, N extensão de metástase em em linfonodo no sistema TNM, M extensão de metástase a distância no sistema TMN, RE receptor de estrogênio, RP receptor de progesterona, HER2 receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano.

#### 4.1.1 O tamanho tumoral ao momento do diagnóstico por faixa etária

Dos 431 casos iniciais, 403 casos apresentaram dados completos em relação ao tamanho tumoral. O tamanho dos tumores variou entre 1 e 170 mm. O tamanho médio dos tumores encontrados no G1 foi 33,3mm, no G2 foi 26,7mm e G3 foi 24,6mm.



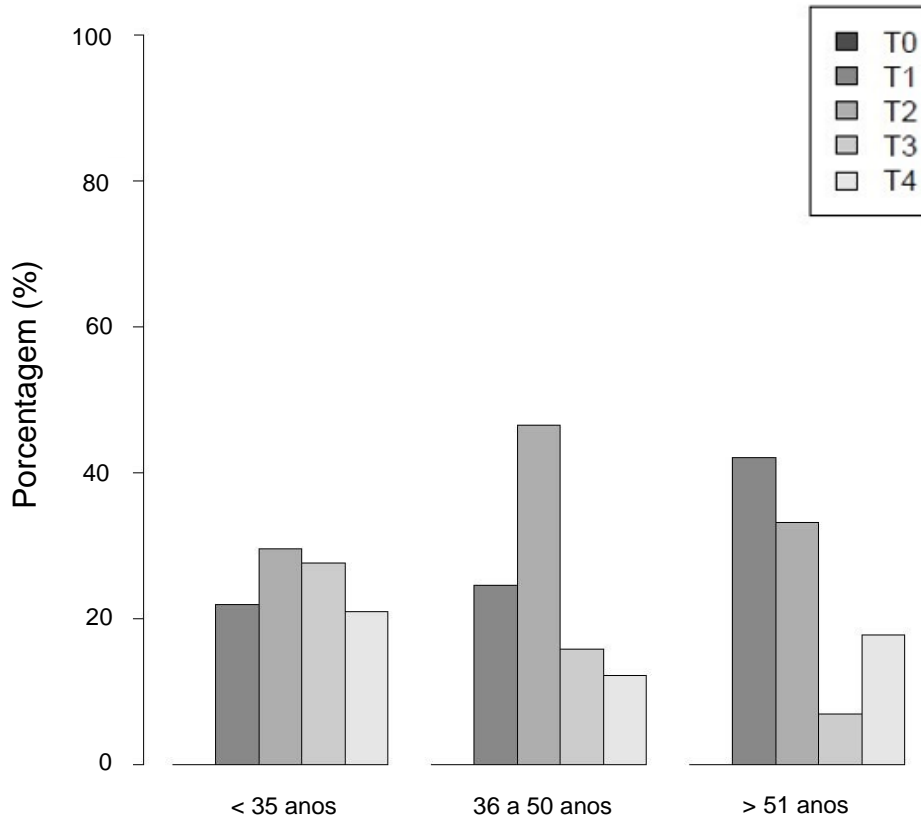
**Figura 3** – Tamanho tumoral médio (mm) de acordo com o grupo de faixa etária. G1: Mulheres jovens ( $\leq 35$  anos de idade); G2: Mulheres adultas (36 a 50 anos de idade); G3: Mulheres idosas ( $>50$  anos de idade). O asterisco indica diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre o tamanho médio dos tumores do G1 e tamanho dos tumores nos G2 e G3 (ANOVA, Teste de Tukey).

Na comparação entre os grupos, verificamos que as mulheres do G1 apresentaram tumores maiores dos que as mulheres dos G2 ( $p < 0,04$ ) e G3 ( $p = 0,001$ ) (Figura 3; Tabela 3).

#### 4.1.2 O sistema de classificação TNM do CI-TNE por faixa etária

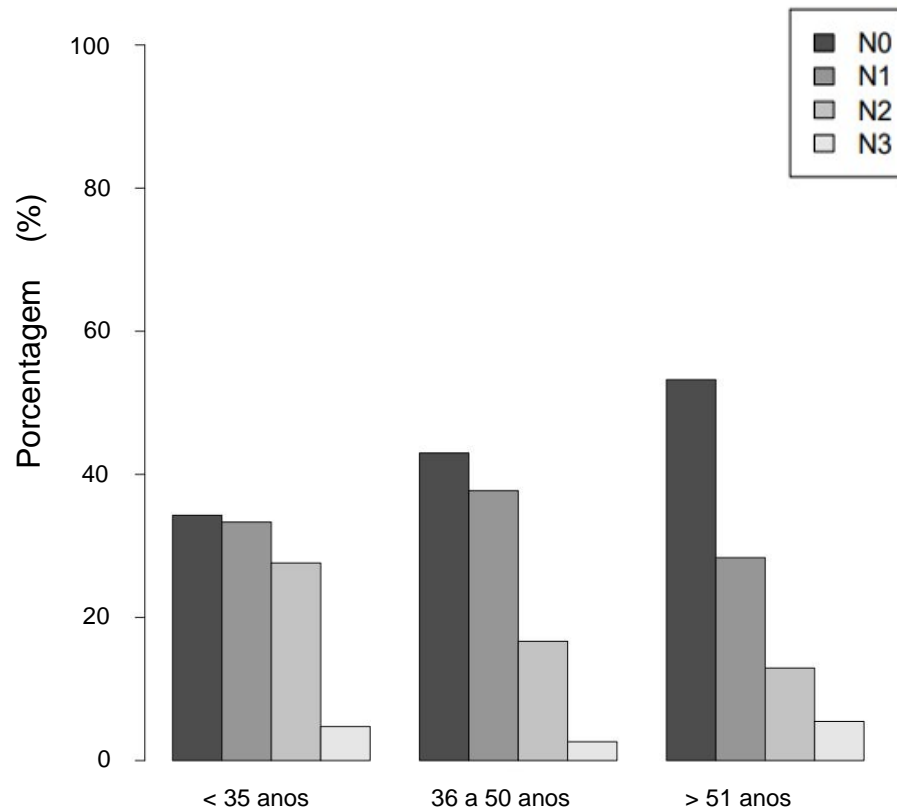
O estágio T1 foi registrado em 42,1% do G3, enquanto que em G2 e G1, T1 foi marcado em 25,4% e 21,9%, respectivamente. T3 foi registrado em 27,6% dos G1 enquanto que em G2 e G3, T3 apareceu em 15,8% e 6,9%, respectivamente. Assim,

verificamos que T3 é mais frequente no G1, enquanto que T1 é mais frequente G3. Não há diferenças quando avaliamos T4 entre os grupos, no entanto notamos um maior número de casos em G1 (Figura 04).



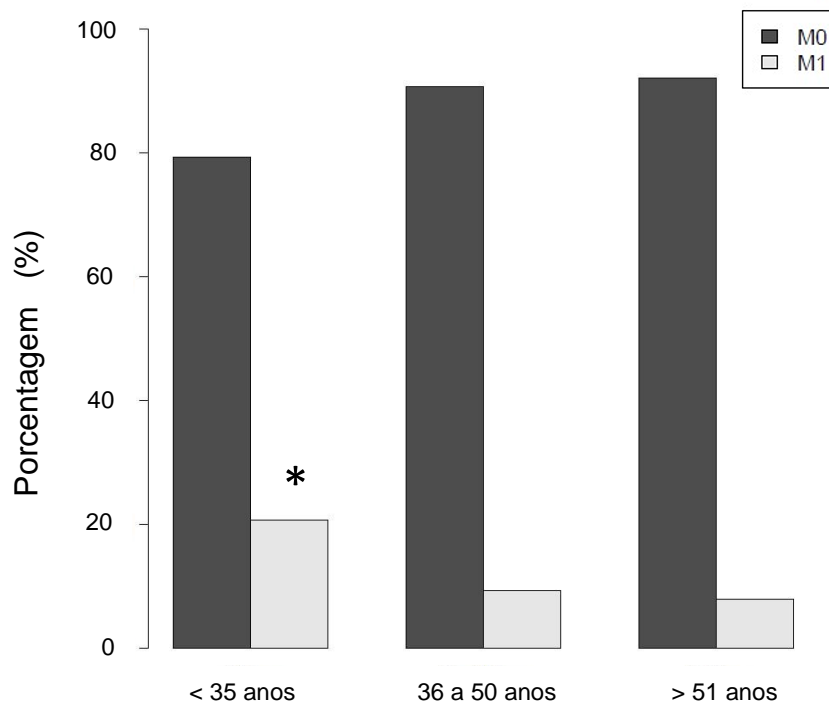
**Figura 4** - Tamanho tumoral (T) pela classificação TNM da AJCC Cancer Staging Manual 7 ed nos diferentes grupos por faixa etária.

Quanto ao envolvimento de linfonodos (N), verificamos que quase dois terços das mulheres do G1 (65,7%) apresentavam comprometimento nodal por ocasião do diagnóstico (Tabela 3). Esse comprometimento nodal diminui à medida que a idade aumenta, chegando próximo da metade (ou seja, 57%) nas mulheres entre 36 e 50 anos e abaixo da metade (46,8%) nas mulheres do G3 ( $p=0,007$ ) (Figura 5). Além disso, verificamos que o N0 é mais frequente no G3. Já N2 é mais frequente no G1 em relação aos demais grupos (Figura 5).



**Figura 5** - Metástase em linfonodo (N) pela classificação TNM da AJCC Cancer Staging Manual 7 ed nos diferentes grupos por faixas etárias. Teste Qui-quadrado ( $p=0,007$ ).

A ocorrência de metástase à distância (M) foi mais frequentemente observada nas mulheres do G1 (20,8%) correspondendo a mais do que o dobro do encontrado nas mulheres do G2 (9,3%) e G3 (7,9%) ( $p=0,002$ ) (Tabela 3 e Figura 6).

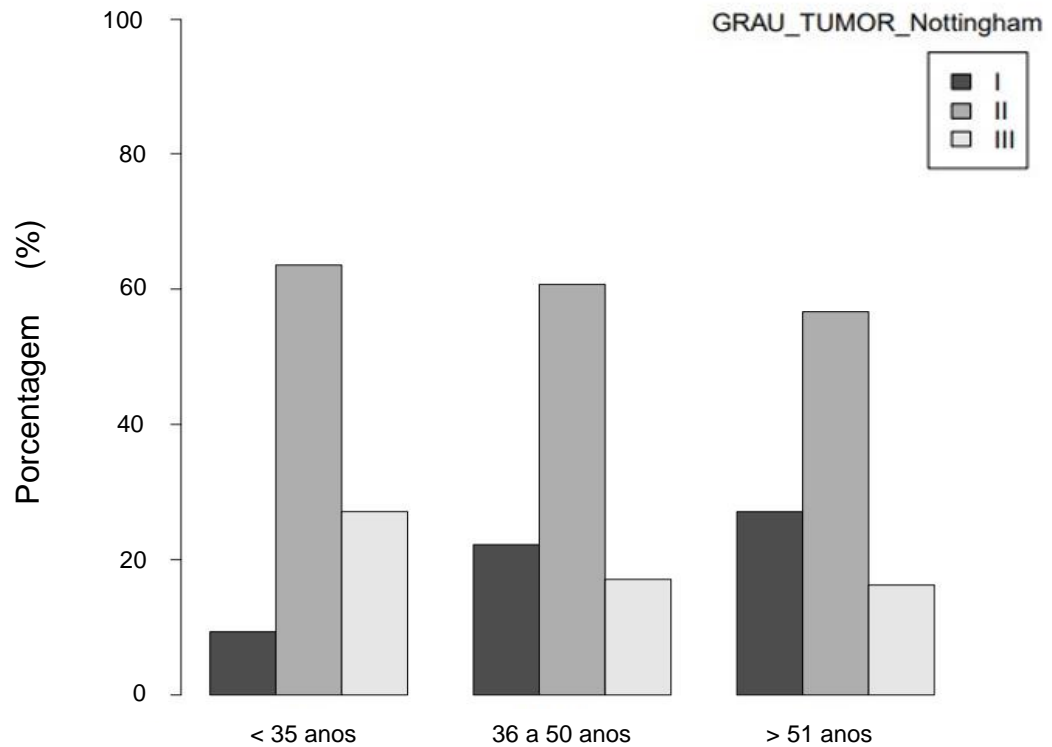


**Figura 6** - Metástase a distância (M) nos grupos de faixa etária. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa ( $p=0,002$ ) entre a prevalência de metástases a distância no G1 em relação aos grupos G2 e G3 (Teste Qui-quadrado)

#### 4.1.3 O grau histológico de Nottingham no CI-TNE por faixa etária

As mulheres do G1 apresentaram menor frequência de neoplasias de grau I (9,3%), correspondendo a aproximadamente metade dos casos encontradas no grupo G2 (22,2%) e um terço casos no G3 (27,1%). Já as neoplasias de grau III foram significativamente mais frequentes nas mulheres do G1 (27,1%) em relação às mulheres do G2 (17,1%) e G3 (16,3%) (Figura 7).

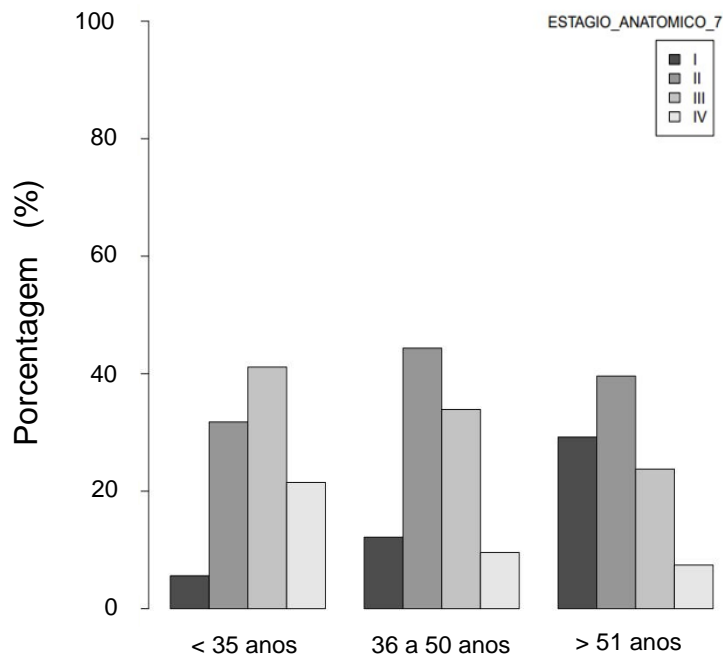




**Figura 7** - Grau histológico (Nottingham) nos diferentes grupos de faixa etária. Teste Qui-quadrado ( $p=0,003$ ).

#### 4.1.4 O estágio anatômico no CI-TNE por faixa etária

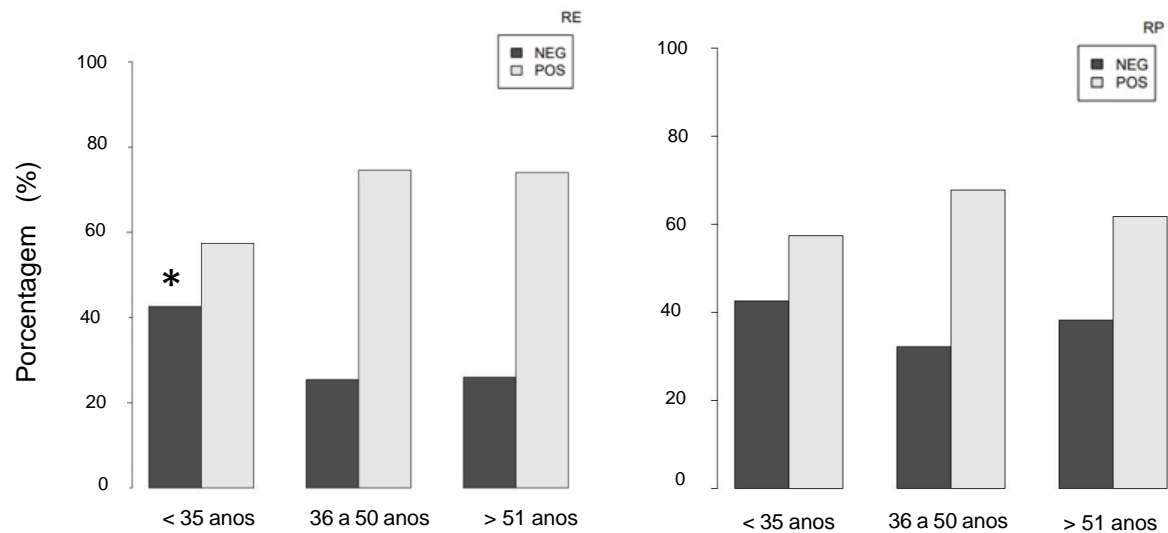
As mulheres do G1 foram mais comumente diagnosticadas no estágio anatômico III, enquanto a maioria das mulheres nas demais faixas etárias foi diagnosticada no estágio II (Figura 8). Poucos casos do G1 foram diagnosticados no estágio I (5,6% dos casos), verificando-se um aumento progressivo nesse estágio I com a idade, sendo 12,2% dos casos para G2 e 29,2% dos casos para G3 (Tabela 3, Figura 8). Por outro lado, a porcentagens de casos no estágio IV foi significativamente maior nas mulheres do G1 (21,5%) em relação as mulheres do G2 (9,6%) e G3 (7,4%) (Figura 8).



**Figura 8** – Estágio anatômico nos diferentes grupos de faixa etária. Teste Qui-quadrado ( $p=0,001$ ).

#### 4.1.5 Receptores hormonais no CI-TNE por faixa etária

Em todas as faixas etárias, a maioria dos pacientes apresentou tumores positivos para receptores hormonais (Figura 9). Verificamos que quanto mais jovem é a paciente de câncer de mama, maior é a porcentagem dos casos sem expressão do RE. No G1, 57,4% dos casos apresentaram expressão de RE. Nas demais faixas etárias, verificou-se um aumento dos casos com expressão positiva de RE, ficando em torno de 74% ( $p=0,004$ ) (Tabela 3).

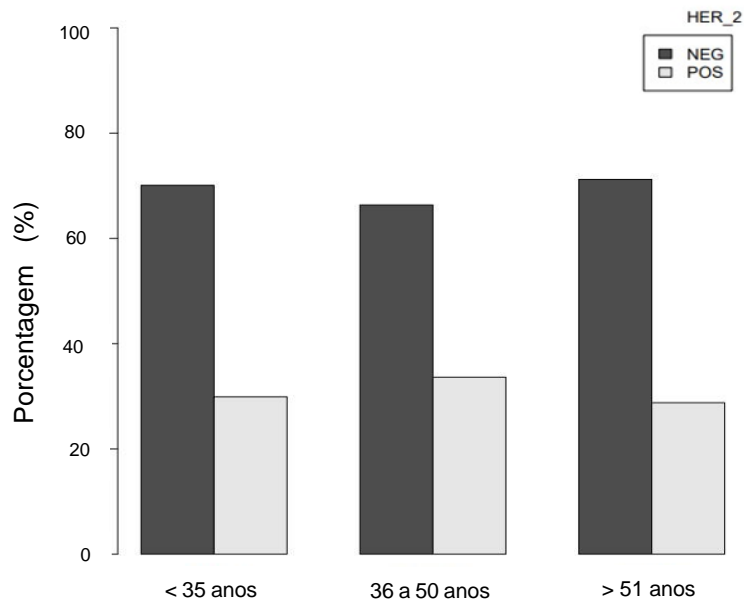


**Figura 9** - Presença receptores hormonais no câncer de mama em mulheres nos grupos de faixas etárias. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa ( $p=0,004$ ) entre a ausência de expressão de RE no G1 em relação aos grupos G2 e G3 (Teste Qui-quadrado)

Na análise da expressão do RP, não houve evidências de associação com as diferentes faixas etárias ( $p=0,26$ ) (tabela 3).

#### 4.1.6 Receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2) no CI-TNE por faixa etária

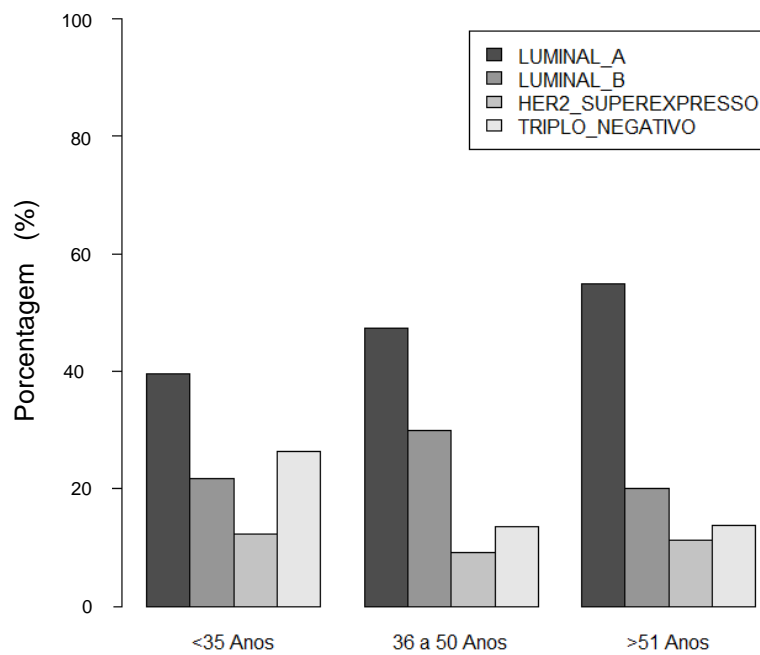
A frequência de tumores HER2 positivos manteve-se em torno dos 30% nas diferentes faixas etárias, não havendo evidências de que a frequência dos tumores HER2 positivos tenha qualquer associação com a idade ao diagnóstico do câncer de mama. ( $p=0,67$ ) (Figura 10).



**Figura 10** – Presença do receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2) no CI-TNE por faixa etária.

#### 4.1.7 Caracterização dos subtipos moleculares do CI-TNE por faixa etária

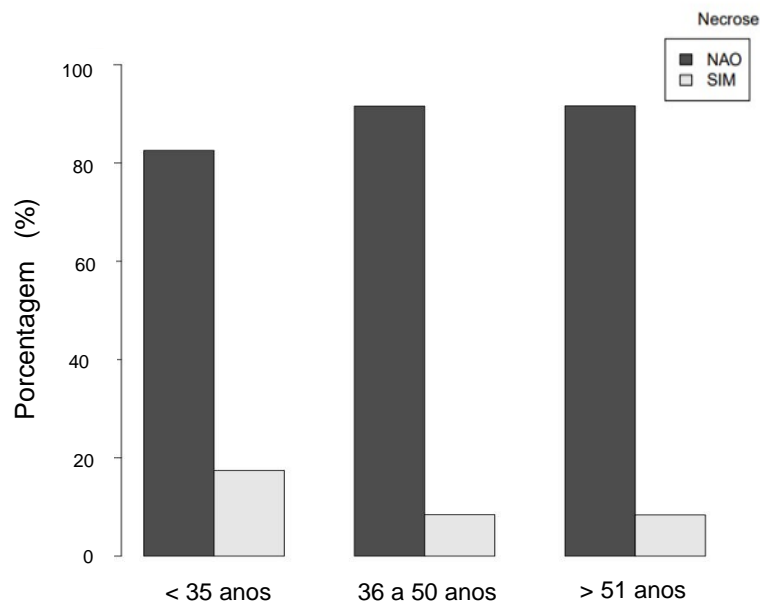
Nos três grupos, a maioria dos tumores foi luminal A (Figura 11). Contudo, na comparação entre as faixas etárias, quanto mais jovem é a mulher, menor é a frequência do subtipo luminal A e maior é a frequência do Triplo negativo. A frequência de tumores Triplo negativo nas mulheres jovens (G1) foi proporcionalmente o dobro (26,4%) daquela observada nas mulheres adultas (G2) (13,6%) e nas idosas (G3) (13,7%) (Tabela 3).



**Figura 11** - Subtipos moleculares do câncer de mama em mulheres nos grupos de faixas etárias. Teste Qui-quadrado ( $p=0,02$ )

#### 4.1.8 Ocorrência de necrose tumoral no CI-TNE por faixa etária

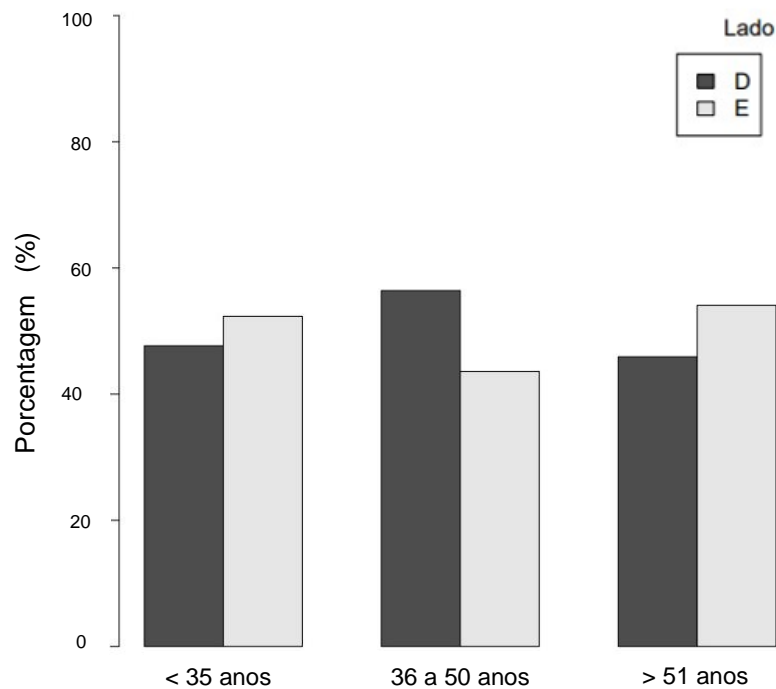
As áreas de necrose tumoral foram mais frequentemente observadas nas mulheres jovens (G1) (17,4%) quando comparado com mulheres adultas (G2) (8,4%) e idosas (G3) (8,4%) (Figura 12). No entanto, não se constatou uma associação significativa entre a necrose tumoral com os diferentes grupos ( $p=0,059$ ) (Tabela 3).



**Figura 12** – Presença de necrose tumoral no CI-TNE nos diferentes grupos por faixa etária. Teste Qui-quadrado ( $p=0,059$ )

#### 4.1.9 Lateralidade no CI-TNE por faixa etária.

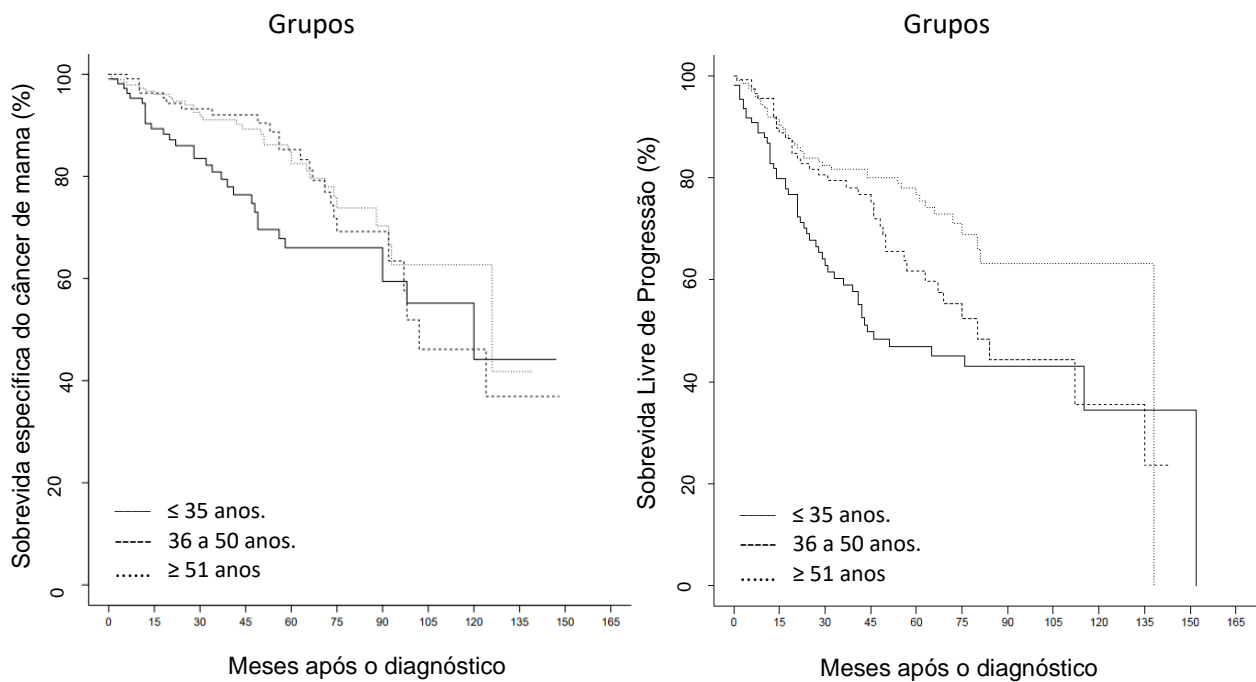
Foram analisados 427 casos, sendo 206 casos (47,7%) apresentando câncer na mama direita e 213 (49,4%) na mama esquerda. Verificamos 7 casos (1,6%) de câncer bilateral síncrono e 2 casos (0,4%) de câncer bilateral metácrono. Nas mulheres jovens (G1) e idosas (G3) foi observado um ligeiro predomínio do câncer de mama do lado esquerdo em relação ao direito (52% e 54%, respectivamente). Já nas mulheres adultas (G2), o câncer de mama do lado direito (56%) predominou em relação ao esquerdo (Figura 13). De modo geral, não houve associação entre lateralidade do câncer de mama e faixa etária (Tabela 3).



**Figura 13** - Lateralidade do CI-TNE nos diferentes grupos por faixa etária. Teste Qui-quadrado ( $p=0,18$ ).

#### 4.1.10 Prognóstico do câncer de mama invasivo nos grupos de faixa etária

A análise de Kaplan-Meier foi realizada para comparar o prognóstico do câncer de mama nos diferentes grupos por faixa etária (Figura 14). Quando analisamos a sobrevida específica do câncer de mama (SEC), verificamos que não houve diferença entre os grupos por faixa etária ( $p=0,13$ ). Em contraste, a sobrevida livre de progressão (SLP) foi afetada pela faixa etária, onde o grupo de mulheres jovens (G1) teve SLP significativamente pior quando comparada com os outros dois grupos ( $p=0,00002$ ). O tempo médio de acompanhamento do estudo SLP foi de 89,8 meses (IC 95%; 84,6 – 95,0) e foi similar nos três grupos de idade. Em 5 anos, a probabilidade de SLP foi de 46% para mulheres jovens, de 62% para mulheres adultas (G2) e 77% para mulheres idosas (G3). Em 10 anos, a probabilidade de SLP das mulheres jovens (G1) e adultas (G2) se aproximaram, ficando em 34% e 35% respectivamente e nas mulheres idosas foi de 63%.



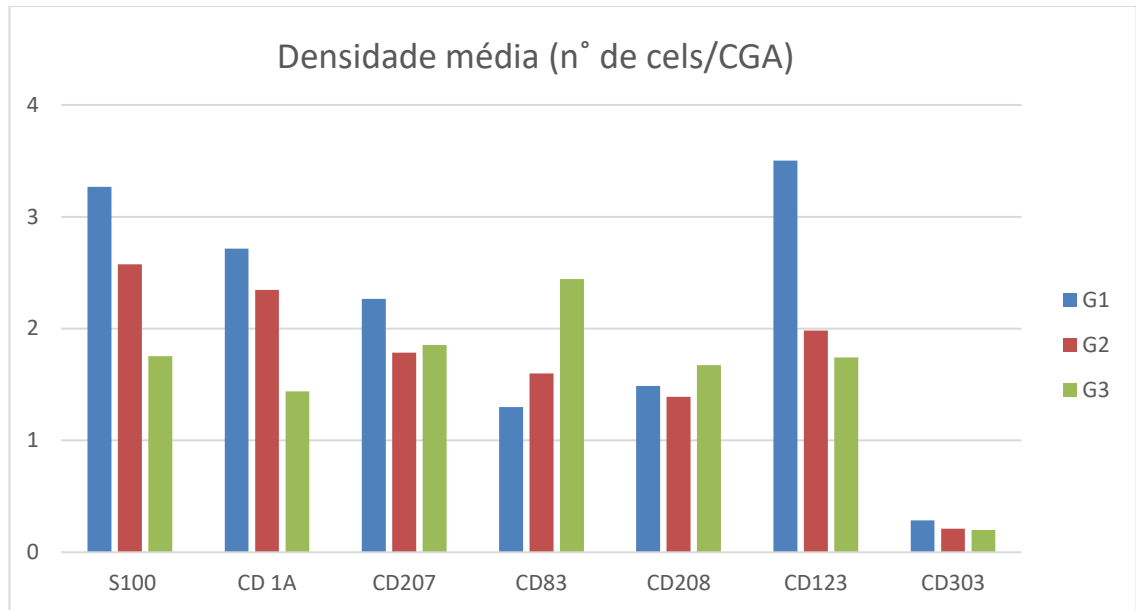
**Figura 14** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o grupo de faixa etária com diagnóstico do câncer de mama ductal invasivo. (a) Sobrevida específica do câncer de mama não mostrou diferenças entre os grupos por faixa etária ( $p=0,13$ ). (b) Sobrevida livre de progressão variou entre os grupos por faixa etária ( $p=0,0002$ ).

## 4.2 Achados Imuno-histoquímicos do perfil de células

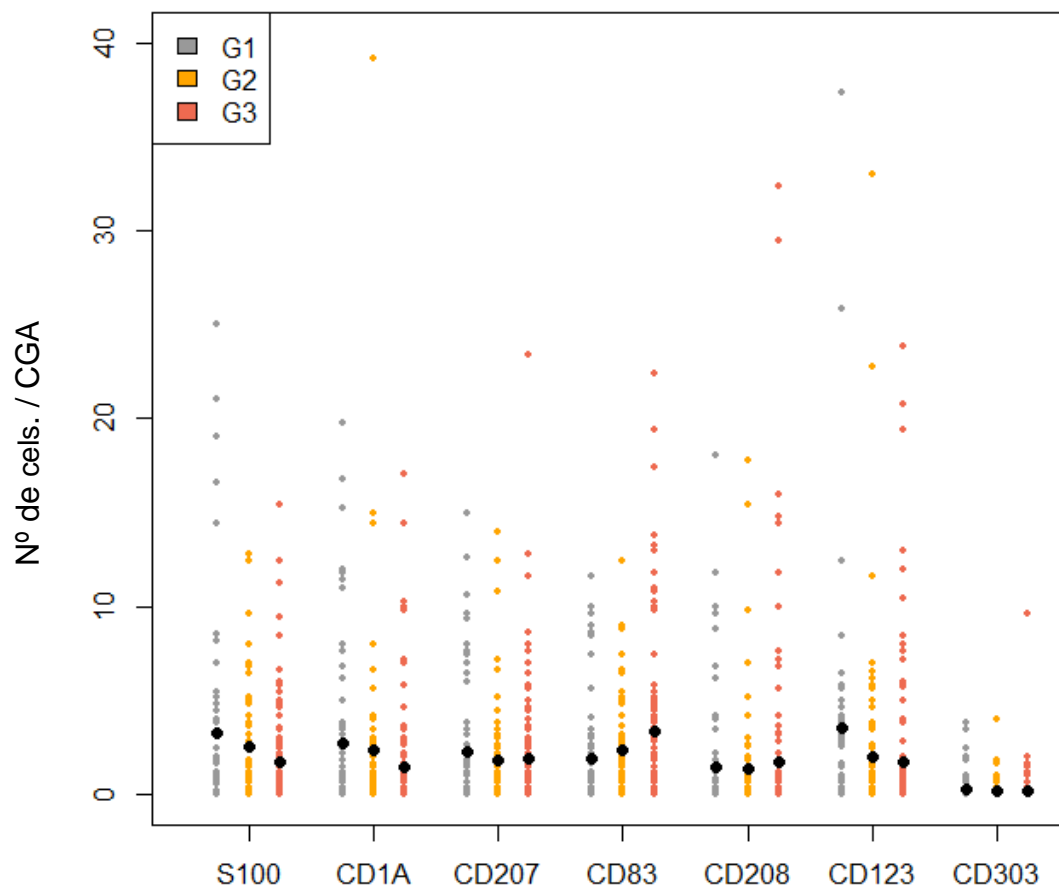
### 4.2.1 Células Dendríticas No Microambiente Tumoral Por Faixa Etária

A frequência de CDs nos diferentes grupos por faixa etária está mostrada nas figuras 15 e 16. Observe que CLs são prevalentes no G1 quando comparado com G2/3. Diferentemente, as CDs maduras são prevalentes no G3, sendo significativo somente para CD83. Relativamente, as CDp CD123+ foram significativamente presentes no G1 quando comparados com G2 /G3.





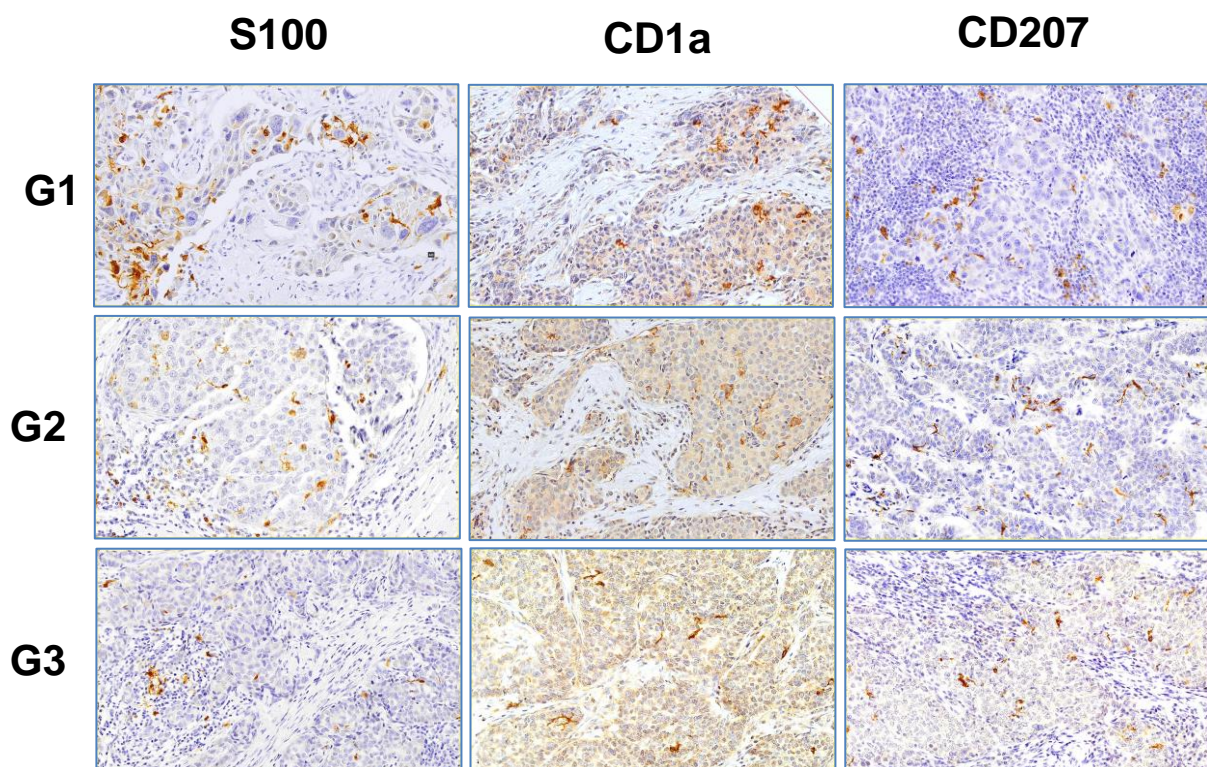
**Figura 15.** Gráfico mostrando a frequência de CDs comparativamente por faixa etária.



**Figura 16.** Gráfico de pontos mostrando a dispersão de CDs comparativamente por faixa etária. Os pontos escuros representam a densidade média de células positivas (número de células positivas/ campo de grande aumento)

#### 4.2.2 CÉLULAS DE LANGERHANS (CLs).

Para o marcador S100 foram avaliados 238 casos. As células S100+ exibiram uma morfologia dendrítica com marcação intensamente marrom, citoplasmático e nuclear (Figura 17). As células S100+ foram encontradas em 185 casos (77%), variando de 1 a 25 células (Tabela 4). As células S100 estavam presentes tanto no interior do componente tumoral (T\_S100+) quanto no estroma peritumoral (S\_S100+).



**Figura 17** – Imunocaracterização de células de Langerhans através dos marcadores S100, CD1a e 207 no microambiente tumoral do CI-TNE nos diferentes grupos por faixa etária (x400).

**Tabela 4** - Distribuição das células S100+ infiltrantes no CI-TNE nos diferentes grupos por faixa etária ( $\bar{x} \pm dp$ ).

GRUPO	N	T_S100	S_S100	Total_S100
G1	64	1,6 $\pm$ 3,9	1,7 $\pm$ 3,3	3,3, $\pm$ 5,5 <sup>a</sup>
G2	63	0,9 $\pm$ 1,6	1,6 $\pm$ 2,3	2,6 $\pm$ 3,1
G3	111	0,8 $\pm$ 1,6	1,0 $\pm$ 1,8	1,8 $\pm$ 2,7 <sup>b</sup>

T\_S100: células dendríticas S100+ presentes no leito tumoral.

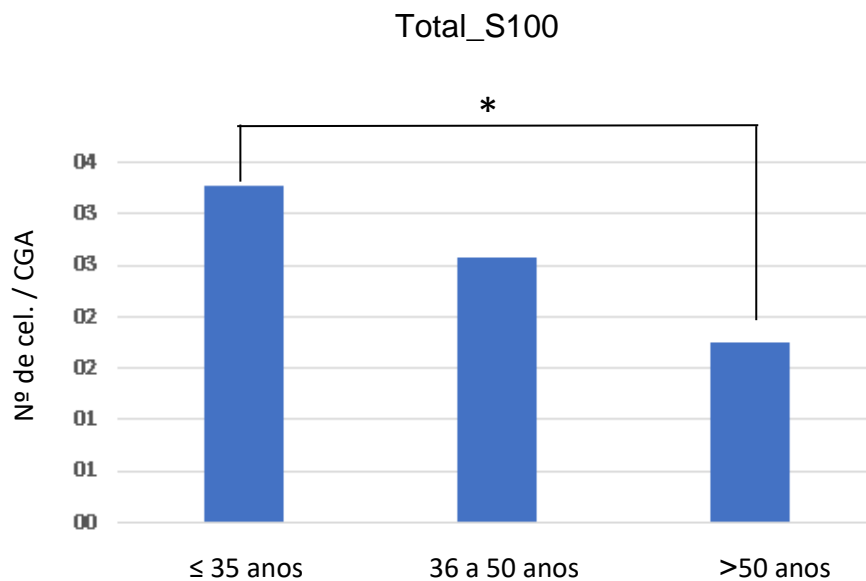
S\_S100: células dendríticas S100+ presentes no estroma peritumoral.

Total\_S100: células dendríticas S100+ intratumoral.

$\bar{x} \pm dp$  : média amostral  $\pm$  desvio padrão.

Letras diferentes (a, b, c) na coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias nos grupos.

A distribuição mostrou que G1 apresentou maior número de células S100+ seguido por G2, com G3 mostrando valores menores. No entanto, somente entre G1 e G3 a diferença foi estatisticamente significativa ( $p=0,02$ ) (Figura 18; tabela 04).



**Figura 18** - Distribuição das densidades de células dendríticas S100+ intratumorais nos grupos de faixas etárias de mulheres com CI-TNE. O asterisco indica diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre o número médio de células S100+ infiltrantes no CI-TNE do G1 e do G3 (ANOVA, Teste de Tukey).

Para o marcador CD1a, foram avaliados 257 casos. Células CD1a+ com morfologia dendrítica foram visualizadas em 167 casos (65%) variando de 1 a 39

células, as quais foram detectadas predominantemente no interior do componente tumoral. Embora um maior número de células CD1a+ foram observadas no G1, seguidos por G2 e G3, não foram evidenciadas diferenças significativas entre os grupos (tabela 5).

**Tabela 5** - Distribuição de células CD1a+ infiltrantes no tumor nos diferentes grupos por faixa etária ( $\bar{x} \pm dp$ ).

GRUPO	n	T_CD1a	S_CD1a	Total_CD1a
G1	67	2,5 ± 4,2	0,2 ± 0,6	2,7 ± 4,5
G2	70	2,0 ± 5,2	0,1 ± 0,3	2,3 ± 5,5
G3	120	1,2 ± 2,5	0,2 ± 0,6	1,4 ± 2,9

T\_CD1a: células dendríticas CD1a+ presentes no leito tumoral.

S\_CD1a: células dendríticas CD1a+ presentes no estroma peritumoral.

Total\_CD1a: células dendríticas intratumoral CD1a.

$\bar{x} \pm dp$ : média amostral ± desvio padrão.

Não houve diferença estatisticamente significativa no número de células CD1a entre os grupos.

Para o marcador CD207, foram analisados 255 casos (tabela 6). Células CD207+ com morfologia dendrítica foram detectadas em 187 casos (73%), variando de 1 a 23 células (Figura 17). As células CD207+ foram encontradas predominantemente no interior do componente tumoral. O G1 apresentou maior número de células CD207+, seguido por níveis similares no G2 e G3. Não houve diferença estatisticamente significativa quando comparamos G1 com G2/G3 (Tabela 6).

**Tabela 6** - Distribuição de células CD207+ no microambiente tumoral nos diferentes grupos por faixa etária ( $\bar{x} \pm dp$ ).

GRUPO	n	T_CD207	S_CD207	Total_CD207
G1	67	1,7 ± 2,9	0,6 ± 1,4	2,3 ± 3,4
G2	74	1,3 ± 2,1	0,5 ± 1,7	1,8 ± 2,7
G3	114	1,5 ± 3,0	0,4 ± 0,7	1,9 ± 3,2

T\_CD207: células dendríticas CD207+ presentes no leito tumoral.

S\_CD207: células dendríticas CD207+ presentes no estroma peritumoral.

Total\_CD207: células dendríticas CD207+ intratumoral.

$\bar{x} \pm dp$ : média amostral ± desvio padrão.

Não houve diferença estatisticamente significativa no número de células CD1a entre os grupos.

#### 4.2.3. Células Dendríticas Maduras

Para o marcador CD83 foram avaliados 226 casos. Células CD83+, com morfologia oval ou dendrítica foram visualizadas em 161 casos (71%), variando de 1 a 12 células (Figura 19). As células CD83+ foram predominantemente encontradas no estroma tumoral. Na avaliação dos grupos, foi observado que G3 apresentou um maior número de células CD83+, seguido de G2, com G1 exibindo valores menores. A frequência de células CD83+ no microambiente tumoral apresentou uma diferença significativa somente quando comparamos G1 com G3 (Tabela 7).

**Tabela 7** - Distribuição de células CD83+ no microambiente tumoral nos diferentes grupos por faixa etária ( $\bar{x} \pm dp$ ).

GRUPO	N	T_CD83	S_CD83	Total_CD83
G1	63	0,1 ± 0,4	1,8 ± 2,8	1,9 ± 2,9 <sup>b</sup>
G2	65	0,1 ± 0,3	2,2 ± 2,6	2,3 ± 2,6
G3	103	0,2 ± 0,7	3,1 ± 4,4	3,3 ± 4,6 <sup>a</sup>

T\_CD83: células dendríticas cd83+ presentes no leito tumoral.

S\_CD83: células dendríticas cd83+ presentes no estroma peritumoral.

Total\_CD83: células dendríticas cd83+ intratumoral

$\bar{x} \pm dp$ : média amostral ± desvio padrão

Letras diferentes (a, b, c) na coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias nos grupos.

Para o marcador CD208, foram analisados 265 casos. Células CD208+ foram detectadas em 113 casos (43%), variando de 1 a 33 células. As células CD208+ com morfologia oval a dendrítica foram encontradas predominantemente no estroma tumoral, em preferencial localização perivascular (Figura 19). Embora um maior número de células CD208+ foi observado no G3 do que G2/G1, a diferença não foi estatisticamente significativa (Tabela 8). A frequência de células CD208+ intratumorais apresentou diferença significativa somente quando comparamos G2 com G3 ( $p=0,04$ ) (Tabela 8).

**Tabela 08** - Distribuição de células CD208+ no microambiente tumoral dos diferentes grupos por faixa etária ( $\bar{x} \pm dp$ ).

GRUPO	N	T_CD208	S_CD208	Total_CD208
G1	63	0,0	1,5 $\pm$ 3,4	1,5 $\pm$ 3,4
G2	65	0,0 <sup>a</sup>	1,4 $\pm$ 3,1	1,4 $\pm$ 3,1
G3	103	0,0 <sup>b</sup>	1,7 $\pm$ 4,8	1,7 $\pm$ 4,8

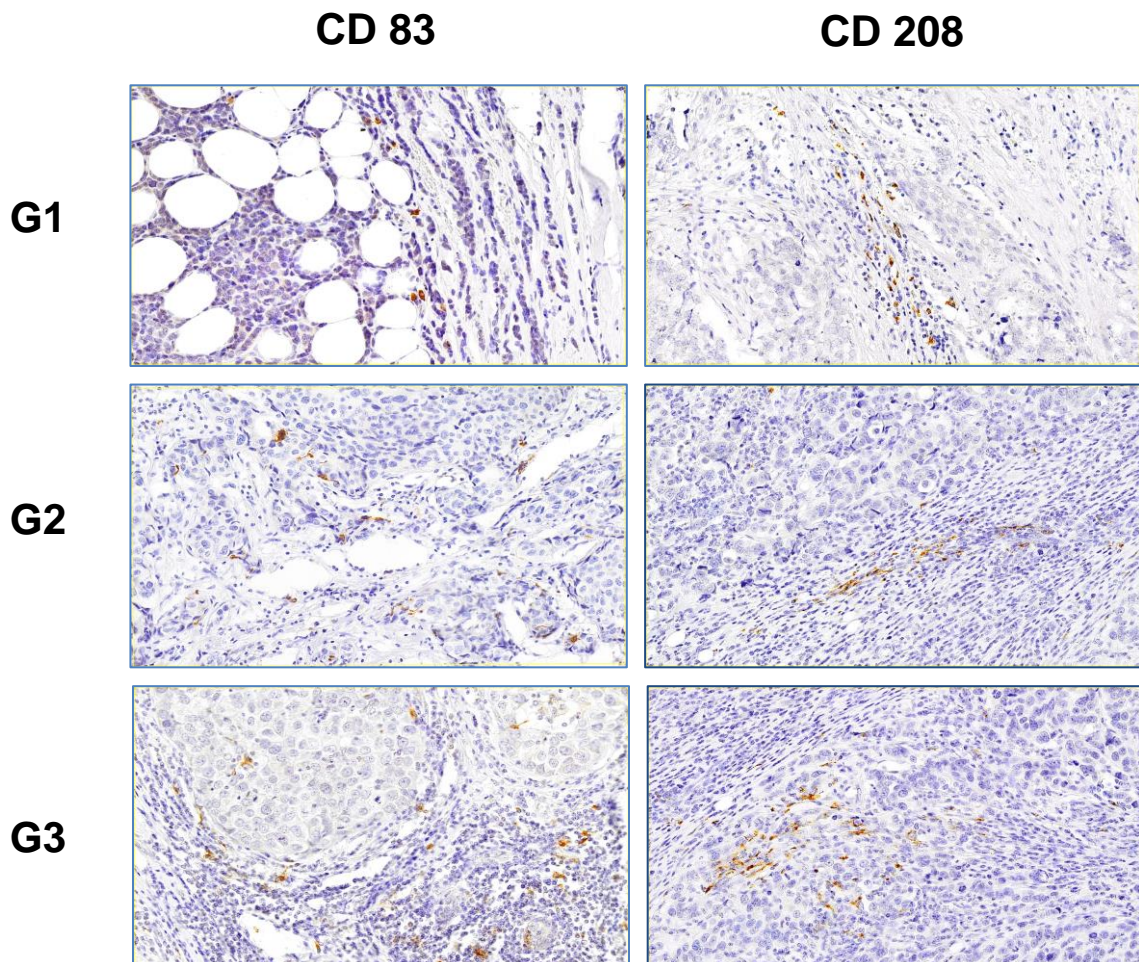
T\_CD208: células dendríticas CD208+ presentes no leito tumoral.

S\_CD208: células dendríticas CD208+ presentes no estroma peritumoral.

Total\_CD208: células dendríticas CD208+ intratumoral.

$\bar{x} \pm dp$ : média amostra  $\pm$  desvio padrão

Letras diferentes (a, b, c) na coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias nos grupos



**Figura 19** – Imunocarcaterização de CDs maduras por marcadores CD83 e CD208 no microambiente tumoral do CI-TNE nos diferentes grupos por faixa etária (x400).

#### 4.2.4 CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITÓIDES

Para o marcador CD123, foram avaliados 275 casos. Células CD123+ com morfologia oval e distribuição perivascular preferencial (incluindo vênulas endoteliais altas, também CD123+) foram observadas em 132 casos (48%), variando de 1 a 68 células/CGA. As células CD123+ foram encontradas mais frequentemente no estroma tumoral (Figura 20). A distribuição de células CD123+ tumorais por grupos evidenciou que as mulheres jovens (G1) apresentaram significativamente maior quantidade do que as mulheres adultas (G2) ( $p=0,02$ ) e idosas (G3) ( $p=0,0005$ ) considerando especificamente o compartimento tumoral, mas não o estromal (Tabela 9).

**Tabela 09** - Distribuição de células CD 123+ no microambiente tumoral de mulheres com CI-TNE por faixa etária ( $\bar{x} \pm dp$ ).

GRUPO	n	T_CD123	S_ CD123	Total_ CD123
G1	70	0,18 <sup>a</sup>	3,29 ± 3,4	3,50 ± 3,4
G2	75	0,05 <sup>b</sup>	1,92 ± 3,1	1,98 ± 3,1
G3	130	0,01 <sup>b</sup>	1,72 ± 4,8	1,74 ± 4,8

T\_CD123: células dendríticas CD123+ presentes no leito tumoral.

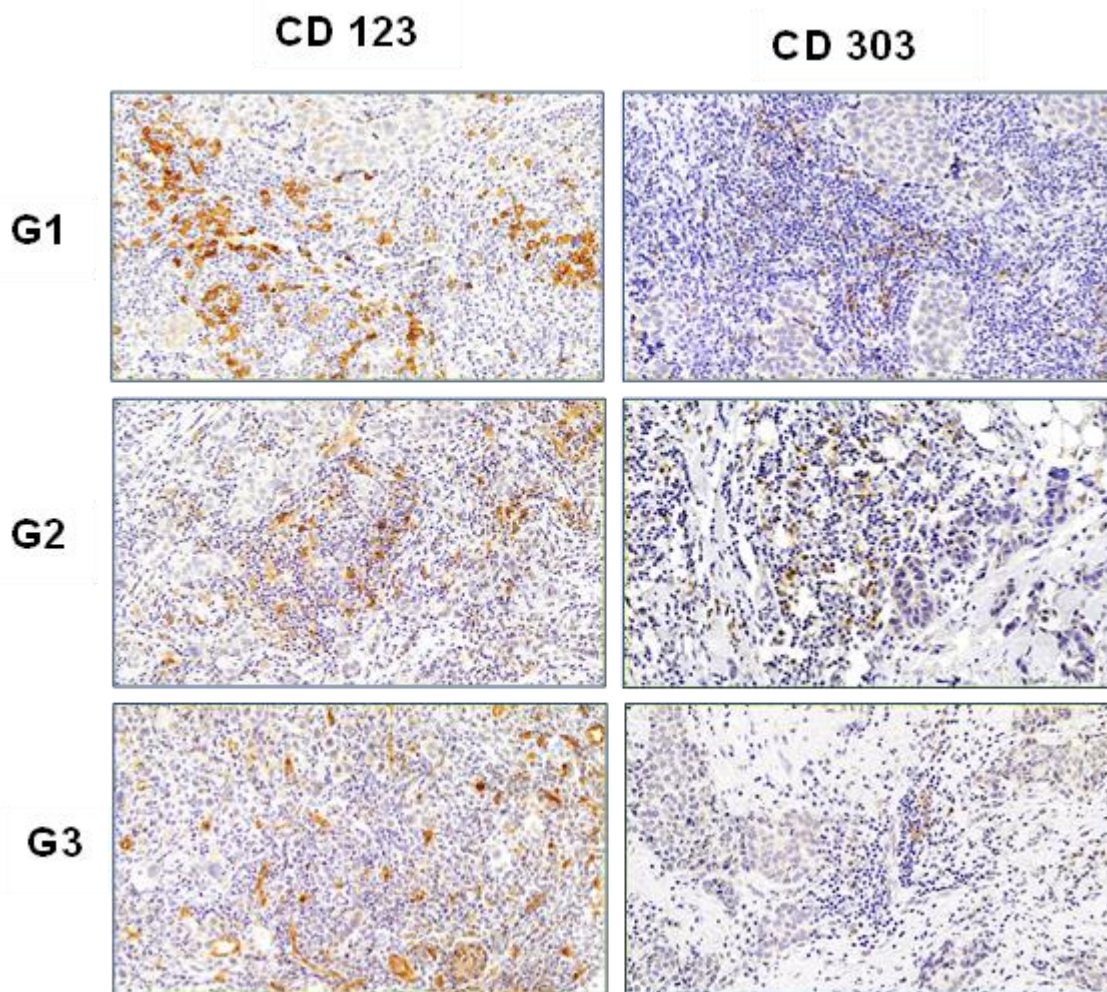
S\_CD123: células dendríticas CD123+ presentes no estroma peritumoral.

Total\_CD123: células dendríticas CD123+ intratumoral.

$\bar{x} \pm dp$ : média amostral ± desvio padrão

Letras diferentes (a, b, c) na coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias nos grupos.

Para o marcador CD303 foram observados 230 casos. Células CD123+ foram observadas em 38 casos (17%), variando de 1 a 10 células. As células CD303+ foram mais frequentemente encontradas no estroma tumoral. Não houve diferença estatisticamente significativa na frequência de células CD303+ entre os grupos.



**Figura 20** – Imunocaracterização de CDp através dos marcadores CD123 e CD303 no microambiente tumoral de CI-TNE nos diferentes grupos por faixa etária (X400).



### **4.3 Correlação dos achados imuno-histoquímicos com variáveis clinicopatológicas, independentemente da idade.**

#### 4.3.1 células de Langerhans

Foi analisada comparativamente a presença de células S100+ com os achados clinicopatológicos de importância prognóstica (Tabela 10). Verificamos diferenças estatisticamente significantes com o *status* de receptores hormonais (RH), grau histológico de Nottingham, metástase à distância e com os subtipos moleculares.

As frequências de células S100+ foram significativamente maiores nos tumores RH- do que RH+, tanto para RE ( $p=0,002$ ) quanto RP ( $p=0,007$ ). Considerando o grau tumoral de Nottingham, as frequências de células S100+ foram significativamente maiores nos tumores de grau III do que no grau II e grau I ( $p=0,001$ ). As células S100+ foram observadas em maior número no subtipo Triplo negativo, seguido em ordem decrescente pelo HER2 superexpresso, Luminal B ( $p=0,04$ ) e luminal A ( $p=0,001$ ). Quando analisamos os sistemas TNM, verificamos que células S100+ estromais foram significativamente maiores nos pacientes M0 do que M1 ( $p=0,04$ ).

**Tabela 10** - Células S100+ em correlação com dados clinicopatológicos (continua)

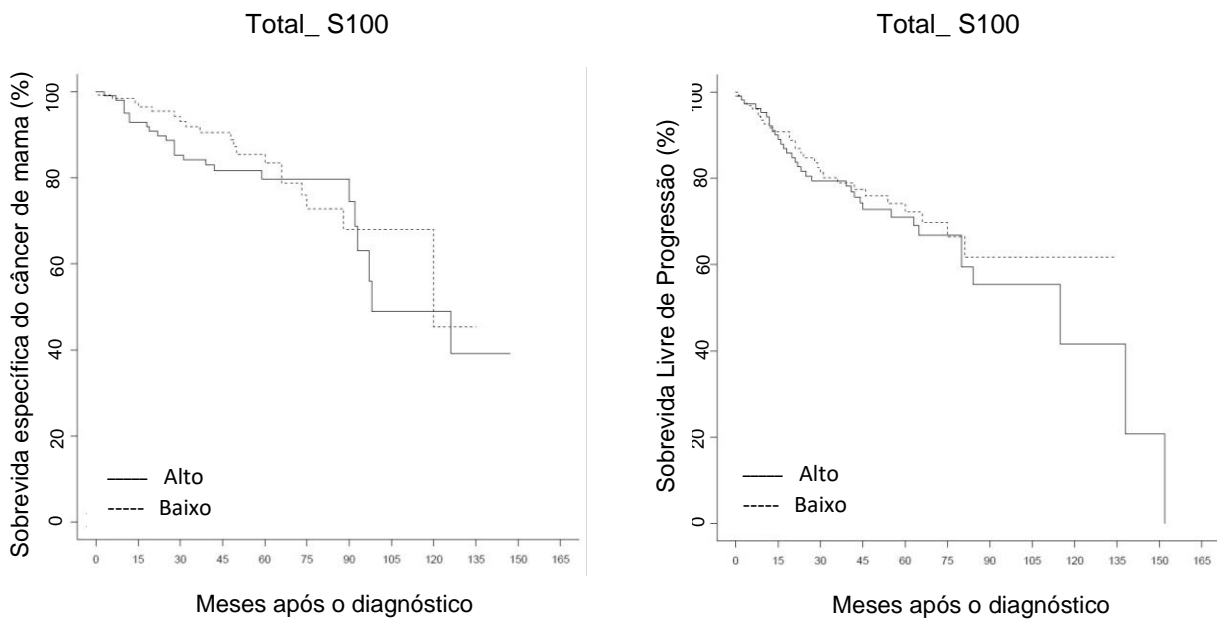
<b>Fatores clinicopatológicos</b>	<b>n (%)</b>	<b>T_S100</b> ( $\bar{x} \pm dp$ ).	<b>S_100</b> ( $\bar{x} \pm dp$ ).	<b>TotaL_S100</b> ( $\bar{x} \pm dp$ ).
<b>Lado</b>				
D	108	1,2 ± 3,1	1,5 ± 2,4	2,7 ± 4,2
E	121	0,9 ± 1,9	1,1 ± 2,1	2,0 ± 3,1
<b>T</b>				
T1	82	0,8 ± 1,8	1,5 ± 2,9	2,3 ± 3,6
T2	82	1,1 ± 2,5	1,4 ± 1,9	2,6 ± 3,5
T3	35	0,7 ± 1,5	0,6 ± 1,2	1,4 ± 2,0
T4	35	1,3 ± 4,1	0,8 ± 1,2	2,1 ± 4,3
<b>N</b>				
N0	111	0,7 ± 1,2	1,1 ± 1,9	1,8 ± 2,6
N1	76	1,6 ± 3,9	1,3 ± 2,0	2,9 ± 4,5
N2	35	0,7 ± 1,1	1,1 ± 1,9	1,9 ± 2,7
N3	11	0,3 ± 0,4	2,4 ± 4,7	2,7 ± 5,0
<b>M</b>				
M0	214	0,9 ± 2,0	1,3 ± 2,2 <sup>a</sup>	2,2 ± 3,2
M1	21	1,7 ± 5,3	0,6 ± 0,9 <sup>b</sup>	2,3 ± 5,5
<b>Estágio anatômico</b>				
I	53	0,6 ± 1,1	1,1 ± 2,0	1,7 ± 2,6
II	99	1,2 ± 2,6	1,5 ± 2,6	2,7 ± 3,9
III	64	0,8 ± 1,1	1,4 ± 2,6	2,3 ± 3,3
IV	20	1,8 ± 5,4	0,6 ± 0,9	2,3 ± 5,6
<b>Necrose</b>				
NÃO	176	0,9 ± 2,1	1,2 ± 2,1	2,1 ± 3,3
SIM	25	1,7 ± 4,8	1,9 ± 3,4	3,6 ± 5,8
<b>Grau Nottingham</b>				
I	54	0,7 ± 1,8 <sup>b</sup>	0,7 ± 1,2	1,1 ± 2,2 <sup>b</sup>
II	132	0,7 ± 1,3	1,5 ± 2,9	2,2 ± 3,6
III	51	2,2 ± 4,4 <sup>a</sup>	1,6 ± 2,0	3,7 ± 5,1 <sup>a</sup>

**Tabela 10** - Células S100+ em correlação com dados clinicopatológicos (conclusão)

<b>RE</b>				
NEG	67	2,0 ± 3,3 <sup>a</sup>	1,6 ± ,6 <sup>a</sup>	3,9 ± 5,3 <sup>a</sup>
POS	171	0,7 ± 1,5 <sup>b</sup>	1,1 ± 1,9 <sup>b</sup>	1,8 ± 2,7 <sup>b</sup>
<b>RP</b>				
NEG	80	1,6 ± 3,6 <sup>a</sup>	1,9 ± 3,1 <sup>a</sup>	3,5 ± 5,0 <sup>a</sup>
POS	158	0,7 ± 1,6 <sup>b</sup>	1,1 ± 1,9 <sup>b</sup>	1,8 ± 2,8 <sup>b</sup>
<b>HER2</b>				
NEG	168	1,2 ± 2,8	1,1 ± 1,7	2,2 ± 3,5
POS	60	0,7 ± 1,6	2,0 ± 3,7	2,8 ± 4,5
<b>Subtipo molecular</b>				
LUMINAL A	116	0,7 ± 1,5 <sup>b</sup>	0,9 ± 1,5 <sup>b</sup>	1,6 ± 2,3 <sup>b</sup>
LUMINAL B	54	0,7 ± 1,6 <sup>b</sup>	1,5 ± 2,5 <sup>b</sup>	2,1 ± 3,5 <sup>b</sup>
HER2_SUPEREXPRESSO	19	0,7 ± 0,8 <sup>b</sup>	3,1 ± 4,9 <sup>a</sup>	3,8 ± 5,4
TRIPLO NEGATIVO	43	2,5 ± 4,6 <sup>a</sup>	1,6 ± 2,4	4,1 ± 5,5 <sup>a</sup>

Abreviações: TOTAL\_S100 células dendríticas S100+ intratumoral, T\_S100 células dendríticas S100+ no leito tumoral, S\_S100 células dendríticas no estroma peritumoral, D direito, E esquerdo, T extensão tamanho tumoral no sistema TMN, N extensão de metástase em linfonodo no sistema TNM, M extensão de metástase a distância no sistema TMN, RE receptor de estrógeno, RP receptor de progesterona, HER2 receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano.  $\bar{x} \pm dp$ : média amostral  $\pm$  desvio padrão; Letras diferentes (a, b, c) na coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias das variáveis

Em termos de prognóstico, a SEC não foi influenciada pelos níveis de infiltração de células S100+ no microambiente tumoral (Figura 21). Da mesma forma, não houve diferenças significativas nas SLP em relação aos níveis de infiltração de células S100+ no microambiente tumoral (Figura 21).



**Figura 21** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o nível de infiltração das células S100+ no microambiente tumoral. Sobrevida específica do câncer de mama não mostrou diferenças entre as células CD S100+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,36$ ). Similramente, a sobrevida livre de progressão não mostrou diferenças entre os níveis alto e baixo de infiltração de células S100+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,54$ ).

Em relação às células CD1a+, houve diferenças estatisticamente significantes considerando o status de expressão de HER2 e da classificação dos subtipos moleculares (Tabela 11). Assim, verificamos haver uma maior infiltração de células CD1a+ nos tumores HER2 negativos do que HER2 positivos ( $p=0,005$ ). Considerando os subtipos moleculares, observamos uma maior infiltração de células CD1a+ nos casos Triplo negativo do que luminal B ( $p=0,008$ ).

**Tabela 11** - Células CD1a+ em correlação com dados clinicopatológicos (continua)

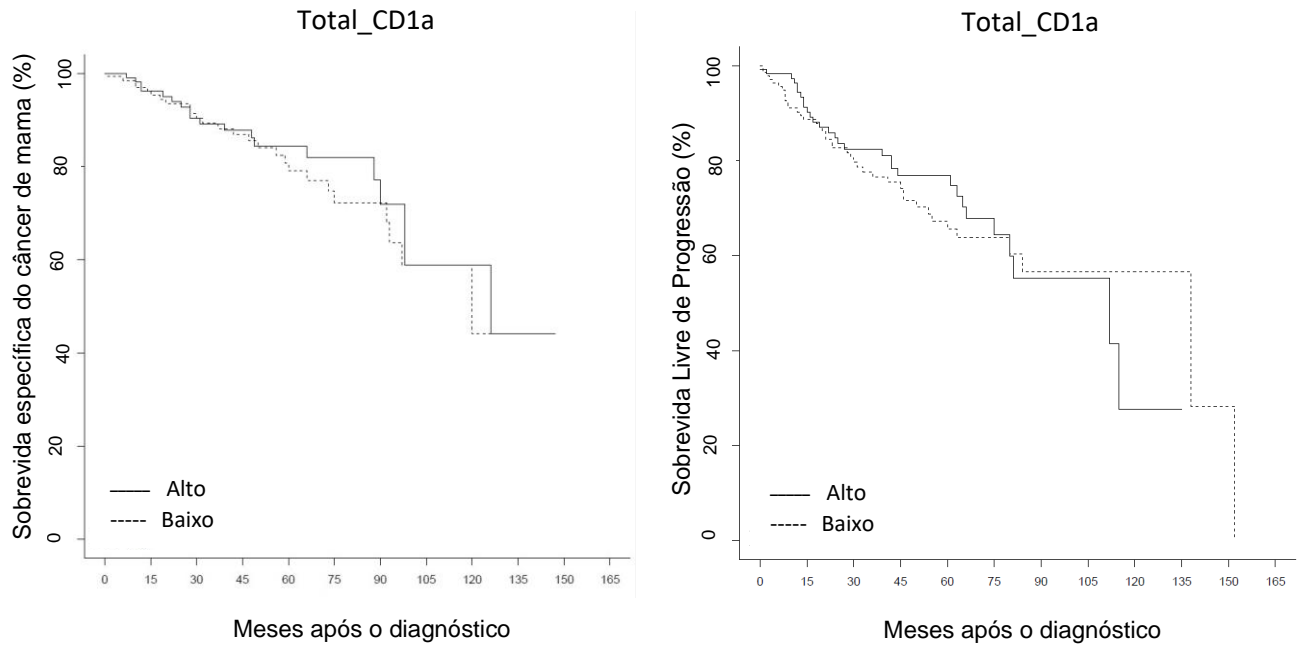
<b>Fatores clínicos</b>	<b>n</b>	<b>T_CD1a</b>	<b>S_CD1a</b>	<b>TotaL_CD1a</b>
<b>Lado</b>				
D	118 (47)	1,7 ± 3,2	0,2 ± 0,4	1,9 ± 3,3
E	131 (53)	1,9 ± 4,5	0,2 ± 0,6	2,2 ± 4,9
<b>T</b>				
T1	87 (35)	1,3 ± 2,4	0,2 ± 0,5	1,5 ± 2,7
T2	86 (34)	2,2 ± 4,0	0,3 ± 0,7	2,5 ± 4,4
T3	38 (15)	2,2 ± 6,5	0,1 ± 0,2	2,2 ± 6,5
T4	40 (16)	1,4 ± 3,1	0,1 ± 0,3	1,8 ± 3,7
<b>N</b>				
N0	114 (45)	1,6 ± 3,2	0,2 ± 0,7	1,9 ± 3,7
N1	88 (35)	2,4 ± 5,2	0,1 ± 0,3	2,7 ± 5,4
N2	39 (15)	1,0 ± 2,4	0,1 ± 0,3	1,1 ± 2,4
N3	11 (4)	1,2 ± 2,5	0,3 ± 0,6	1,6 ± 3,0
<b>M</b>				
M0	226 (89)	1,8 ± 3,9	0,2 ± 0,5	2,0 ± 4,2
M1	28 (11)	1,7 ± 3,7	0,1 ± 0,2	1,7 ± 3,8
<b>Estágio anatômico</b>				
I	53 (21)	1,2 ± 2,4	0,2 ± 0,6	1,3 ± 2,8
II	105 (41)	1,8 ± 3,4	0,2 ± 0,6	2,0 ± 3,7
III	70 (27)	2,2 ± 5,3	0,2 ± 0,4	2,5 ± 5,5
IV	27 (11)	1,7 ± 3,8	0,1 ± 0,3	1,8 ± 3,8
<b>Necrose</b>				
NÃO	196 (89)	1,7 ± 4,0	0,2 ± 0,5	2,0 ± 4,3
SIM	23 (11)	2,3 ± 4,0	0,2 ± 0,3	2,5 ± 3,9
<b>Grau Nottingham</b>				
I	59 (23)	1,5 ± 2,9	0,2 ± 0,6	1,7 ± 3,3
II	144 (56)	1,6 ± 4,1	0,2 ± 0,6	1,8 ± 4,3
III	52 (20)	2,8 ± 4,2	0,1 ± 0,3	3,1 ± 4,5

**Tabela 11** - Células CD1a+ em correlação com dados clinicopatológicos (conclusão)

<b>RE</b>				
NEG	72 (28)	2,4 ± 4,0	0,2 ± 0,6	2,8 ± 4,6
POS	185 (72)	1,5 ± 3,8	0,2 ± 0,5	1,7 ± 4,0
<b>RP</b>				
NEG	89 (35)	2,1 ± 3,7	0,2 ± 0,5	2,4 ± 4,3
POS	168 (65)	1,6 ± 4,0	0,2 ± 0,5	1,8 ± 4,1
<b>HER2</b>				
NEG	174 (71)	2,2 ± 4,4 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,6 <sup>a</sup>	2,4 ± 4,7 <sup>a</sup>
POS	72 (29)	0,8 ± 2,1 <sup>b</sup>	0,1 ± 0,2 <sup>b</sup>	1,1 ± 2,7 <sup>b</sup>
<b>Subtipo molecular</b>				
LUMINAL A	121 (48)	1,9 ± 4,4	0,2 ± 0,6	2,1 ± 4,6
LUMINAL B	61 (24)	0,9 ± 2,3 <sup>b</sup>	0,1 ± 0,3	1,0 ± 2,3 <sup>b</sup>
HER2_SUPEREXPRESSO	23 (9)	0,9 ± 1,1	0,1 ± 0,2	1,6 ± 3,1
TRIPLO NEGATIVO	45 (18)	3,4 ± 4,8 <sup>a</sup>	0,3 ± 0,7	3,6 ± 5,2 <sup>a</sup>

Abreviações: TOTAL\_CD1a células dendríticas CD1a + intratumoral, T\_ CD1a células dendríticas CD1a + no leito tumoral, S\_ CD1a células dendríticas no estroma peritumoral, D direito, E esquerdo, T extensão tamanho tumoral no sistema TMN, N extensão de metástase em linfonodo no sistema TNM, M extensão de metástase a distância no sistema TMN, RE receptor de estrógeno, RP receptor de progesterona, HER2 receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano.  $\bar{x} \pm dp$ : média amostral  $\pm$  desvio padrão; Letras diferentes (a, b, c) na coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias nas variáveis.

Em termos de prognóstico, a SEC não foi influenciada pelos níveis de infiltração de células CD1a+ no microambiente tumoral (Figura 22). Da mesma forma, não houve diferenças significativas nas SLP em relação aos níveis de infiltração de células CD1a+ no microambiente tumoral (Figura 22).



**Figura 22** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o nível de infiltração das células CD1a+ no microambiente tumoral. Sobrevida específica do câncer de mama não mostrou diferenças entre as células CD1a+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,56$ ). Similarmente, a sobrevida livre de progressão não mostrou diferenças entre os níveis alto e baixo de infiltração de células S100+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,75$ ).

Em relação às células CD207+, houve diferenças estatisticamente significantes considerando o status da expressão de HER2 e da metástase à distância (tabela 12). Assim, verificamos haver uma maior infiltração de células CD207+ nos tumores HER2 negativos do que HER2 positivos ( $p=0,005$ ). Além disso, houve maior número de células estromais CD207+ nos casos M0 do que M1 ( $p=0,02$ ).

**Tabela 12** - Células CD207+ em correlação com dados clinicopatológicos (continua)

<b>Fatores clínicos</b>	<b>N (%)</b>	<b>T_CD207</b>	<b>S_CD207</b>	<b>Total_CD207</b>
<b>Lado</b>				
D	118 (48)	1,5 ± 2,6	0,5 ± 1,4	2,0 ± 3,1
E	129 (52)	1,4 ± 2,2	0,4 ± 1,0	1,7 ± 2,6
<b>T</b>				
T1	81 (32)	1,7 ± 3,3	0,5 ± 1,6	2,2 ±
T2	92 (37)	1,4 ± 2,3	0,5 ± 0,8	1,9 ±
T3	36 (14)	0,9 ± 1,5	0,1 ± 0,4	1,0 ±
T4	41 (16)	1,8 ± 3,4	0,6 ± 1,5	2,4 ±
<b>N</b>				
N0	117 (47)	1,5 ± 2,9	0,5 ± 1,1	2,0 ± 3,3
N1	86 (34)	1,8 ± 2,9	0,3 ± 0,5	2,1 ± 3,0
N2	38 (15)	1,2 ± 2,1	0,7 ± 2,3	2,0 ± 3,2
N3	10 (4)	0,3 ± 0,5	0,3 ± 0,6	0,6 ± 0,9
<b>M</b>				
M0	225 (89)	1,5 ± 2,7	0,5 ± 1,3 <sup>a</sup>	1,9 ± 3,1
M1	27 (11)	1,7 ± 3,1	0,2 ± 0,4 <sup>b</sup>	1,9 ± 3,1
<b>Estágio anatómico</b>				
I	50 (20)	1,1	0,6 ± 2,0	1,7 ± 2,8
II	106 (42)	1,6	0,3 ± 0,5	1,9 ± 3,3
III	71 (28)	1,6	0,6 ± 1,3	2,2 ± 3,1
IV	26 (10)	1,8	0,2 ± 0,4	2,0 ± 3,2
<b>Necrose</b>				
NÃO	191 (88)	1,6 ± 2,9	0,4 ± 1,2	2,0 ± 3,2
SIM	26 (12)	1,1 ± 2,0	0,7 ± 1,9	1,8 ± 2,8
<b>Grau Nottingham</b>				
I	60 (24)	1,9 ± 3,8	0,4 ± 0,6	2,3 ± 4,0
II	139 (55)	1,2 ± 2,2	0,4 ± 0,7	1,6 ± 2,5
III	54 (21)	1,7 ± 2,6	0,8 ± 2,3	2,4 ± 3,3

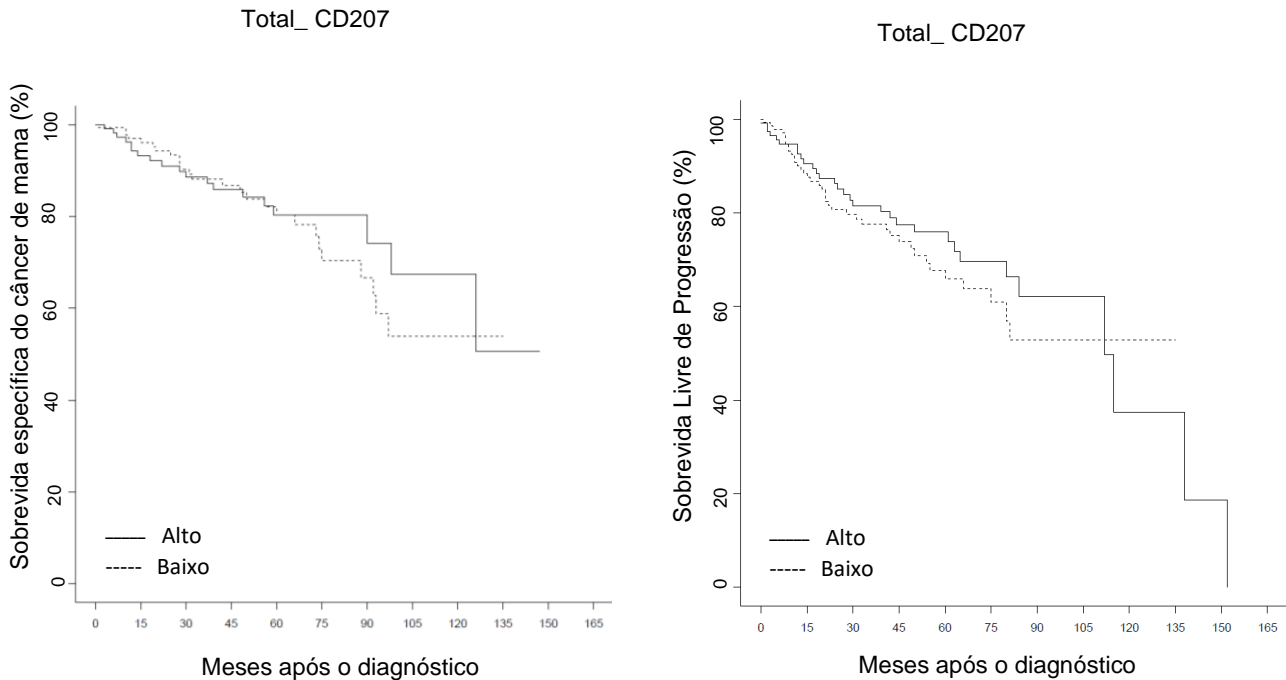


**Tabela 12** - Células CD207+ em correlação com dados clinicopatológicos (conclusão)

<b>RE</b>				
NEG	71 (28)	1,8 ± 2,9	0,5 ± 1,3	2,3 ± 3,3
POS	184 (72)	1,4 ± 2,6	0,4 ± 1,2	1,8 ± 3,0
<b>RP</b>				
NEG	88 (35)	1,6 ± 2,7	0,5 ± 1,2	2,1 ± 3,0
POS	167 (65)	1,4 ± 2,7	0,4 ± 1,2	1,9 ± 3,1
<b>HER2</b>				
NEG	178 (73)	1,7 ± 3,1 <sup>a</sup>	0,5 ± 1,4	2,2 ± 3,5 <sup>a</sup>
POS	66 (27)	1,0 ± 1,5 <sup>b</sup>	0,3 ± 0,5	1,3 ± 1,7 <sup>b</sup>
<b>Subtipo molecular</b>				
LUMINAL A	123 (50)	1,5 ± 3,0	0,4 ± 0,7	1,9 ± 3,3
LUMINAL B	59 (24)	1,1 ± 1,6	0,6 ± 1,8	1,6 ± 2,5
HER2_SUPEREXPRERSSO	20 (8)	0,9 ± 1,3	0,5 ± 0,8	1,4 ± 1,7
TRIPLO NEGATIVO	46 (19)	2,3 ± 3,4	0,6 ± 1,5	2,9 ± 3,8

Abreviações: TOTAL\_CD207 células dendríticas CD207 + intratumoral, T\_ CD207 células dendríticas CD207 + no leito tumoral, S\_ CD207 células dendríticas no estroma peritumoral, D direito, E esquerdo, T extensão tamanho tumoral no sistema TMN, N extensão de metástase em linfonodo no sistema TNM, M extensão de metástase a distância no sistema TMN, RE receptor de estrogênio, RP receptor de progesterona, HER2 receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano.  $\bar{x} \pm dp$ : média amostral  $\pm$  desvio padrão; Letras diferentes (a, b, c) na coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias nas variáveis.

Em termos de prognóstico, a SEC não foi influenciada pelos níveis de infiltração de células CD207+ no microambiente tumoral (Figura 23). Da mesma forma, não houve diferenças significativas nas SLP em relação aos níveis de infiltração de células CD207+ no microambiente tumoral (Figura 23).



**Figura 23** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o nível de infiltração das células CD207+ no microambiente tumoral. Sobrevida específica do câncer de mama não mostrou diferenças entre as células CD 207 no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,61$ ). Sobrevida livre de progressão não mostrou diferenças entre os níveis alto e baixo de infiltração de células CD207+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,45$ ).

#### 4.3.2 CÉLULAS DENDRÍTICAS MADURAS

Em relação às células CD83+, houve diferenças estatisticamente significantes considerando o sistema TNM, *status* do RH, presença de necrose, grau histológico de Nottingham, subtipos moleculares e, notavelmente, com sobrevida (tabela 13). Assim, verificamos que os tumores T1 apresentaram maior infiltração de células CD83+ do que tumores T4 ( $p=0,03$ ). Similarmente, casos M0 mostram maior número de células CD83+ do que casos M1 ( $p=0,04$ ). Em relação aos *status* do RH, um maior número de células CD83+ foi observado nos casos RE+ do que RE- ( $p=0,01$ ) e nos casos RP+ do que RP- ( $p=0,001$ ). Casos apresentando necrose mostraram uma menor infiltração de células CD83+ do que casos sem necrose ( $p=0,04$ ). Em relação ao grau tumoral, casos com grau III mostraram baixos níveis de células CD83+ do que casos com grau I ( $p=0,007$ ) e grau II ( $p=0,004$ ), estes dois últimos mostrando níveis similares. Considerando os subtipos moleculares, o subtipo Luminal A mostrou maior infiltração de células CD83+ do que os outros subtipos com níveis similares, especialmente do subtipo Triplo negativo ( $p=0,01$ ), o qual apresentou valores inferiores.

**Tabela 13 - Células CD83+ em correlação com dados clinicopatológicos (continua)**

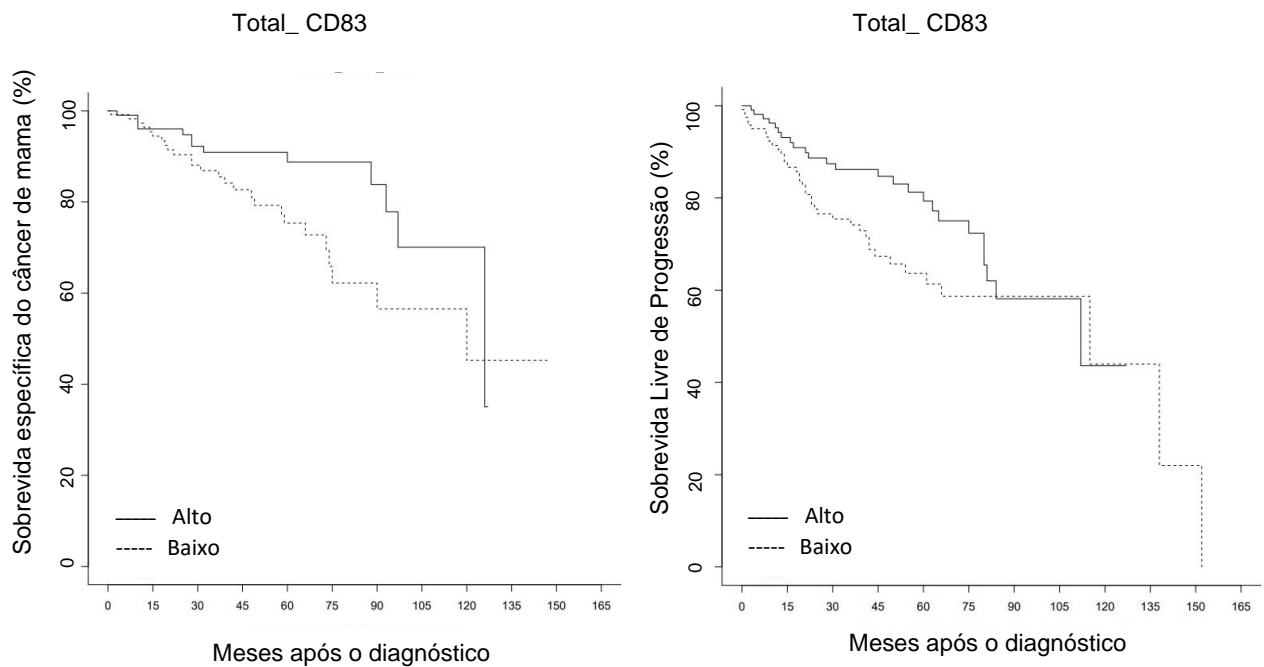
<b>Fatores clínicos</b>	<b>n</b>	<b>T_CD83</b>	<b>S_CD83</b>	<b>Total_CD83</b>
<b>Lado</b>				
D	105 (47)	0,2 ± 0,6	2,4 ± 3,2	2,6 ± 3,3
E	117 (53)	0,2 ± 0,6	2,5 ± 4,0	2,7 ± 4,2
<b>Necrose</b>				
NÃO	175 (88)	0,2 ± 0,6	2,7 ± 3,8	2,9 ± 4,0 <sup>a</sup>
SIM	24 (12)	0,1 ± 0,2	1,5 ± 2,7	1,6 ± 2,7 <sup>b</sup>
<b>T</b>				
T1	79 (35)	0,1 ± 0,4	3,2 ± 4,5 <sup>a</sup>	3,3 ± 4,7 <sup>a</sup>
T2	77 (34)	0,2 ± 0,8	2,4 ± 3,0	2,7 ± 3,2
T3	32 (14)	0,1 ± 0,5	2,7 ± 4,0	2,9 ± 4,3
T4	39 (17)	0,1 ± 0,3	1,2 ± 1,3 <sup>b</sup>	1,3 ± 1,4 <sup>b</sup>
<b>N</b>				
N0	107 (47)	0,2 ± 0,7	2,6 ± 3,7	2,8 ± 3,9
N1	73 (32)	0,1 ± 0,1	2,3 ± 3,0	2,4 ± 3,1
N2	37 (16)	0,2 ± 0,8	1,6 ± 2,5	1,8 ± 2,9
N3	9 (4)	0,1 ± 0,2	4,2 ± 4,6	4,3 ± 4,6
<b>M</b>				
M0	205 (90)	0,2 ± 0,6 <sup>a</sup>	2,6 ± 3,7 <sup>a</sup>	2,8 ± 3,9 <sup>a</sup>
M1	23 (10)	0,1 ± 0,2 <sup>b</sup>	1,5 ± 2,1 <sup>b</sup>	1,5 ± 2,1 <sup>b</sup>
<b>Estágio anatômico</b>				
I	50 (22)	0,1 ± 0,4	3,0 ± 4,6	3,1 ± 4,6
II	89 (39)	0,2 ± 0,6	2,6 ± 3,7	2,9 ± 4,0
III	68 (30)	0,2 ± 0,7	2,3 ± 3,0	2,5 ± 3,1
IV	22 (10)	0,1 ± 0,2	1,5 ± 2,2	1,6 ± 2,1
<b>Necrose</b>				
NÃO	175 (88)	0,2 ± 0,6	2,7 ± 3,8	2,9 ± 4,0 <sup>a</sup>
SIM	24 (12)	0,1 ± 0,2	1,5 ± 2,7	1,6 ± 2,7 <sup>b</sup>

**Tabela 13** - Células CD83+ em correlação com dados clinicopatológicos (conclusão)

<b>Grau Nottinghan</b>				
I	51 (22)	0,2 ± 0,4 <sup>a</sup>	3,1 ± 4,4	3,3 ± 4,5 <sup>a</sup>
II	131 (57)	0,2 ± 0,7 <sup>a</sup>	2,9 ± 3,6	3,0 ± 3,9 <sup>a</sup>
III	48 (21)	0,1 ± 0,4 <sup>b</sup>	0,9 ± 1,4	1,1 ± 1,4 <sup>b</sup>
<b>RE</b>				
NEG	66 (35)	0,1 ± 0,2 <sup>b</sup>	1,8 ± 2,4 <sup>b</sup>	1,9 ± 2,4 <sup>b</sup>
POS	165 (71)	0,2 ± 0,7 <sup>a</sup>	2,8 ± 3,9 <sup>a</sup>	3,0 ± 4,1 <sup>a</sup>
<b>RP</b>				
NEG	81 (35)	0,1 ± 0,6	1,6 ± 2,3 <sup>b</sup>	1,7 ± 2,5 <sup>a</sup>
POS	150 (65)	0,2 ± 0,6	3,0 ± 4,0 <sup>a</sup>	3,2 ± 4,2 <sup>b</sup>
<b>HER2</b>				
NEG	159 (72)	0,1 ± 0,5	2,7 ± 3,9	2,8 ± 4,1
POS	61 (28)	0,2 ± 0,8	2,0 ± 2,7	2,2 ± 2,9
<b>Subtipo molecular</b>				
LUMINAL A	111 (49)	0,2 ± 0,6	3,4 ± 4,4 <sup>a</sup>	3,6 ± 4,6 <sup>a</sup>
LUMINAL B	55 (24)	0,2 ± 0,8	1,8 ± 2,6 <sup>b</sup>	2,0 ± 2,8
HER2_SUPEREXPRERSSO	19 (8)	0,1 ± 0,2	2,0 ± 2,6	2,1 ± 2,7
TRIPLO NEGATIVO	40 (18)	0,1 ± 0,2	1,4 ± 2,2 <sup>b</sup>	1,5 ± 2,2 <sup>b</sup>

Abreviações: TOTAL\_CD83 células dendríticas CD83+ intratumoral, T\_ CD83 células dendríticas CD83+ no leito tumoral, S\_ CD83 células dendríticas no estroma peritumoral, D direito, E esquerdo, T extensão tamanho tumoral no sistema TMN, N extensão de metástase em linfonodo no sistema TNM, M extensão de metástase a distância no sistema TMN, RE receptor de estrógeno, RP receptor de progesterona, HER2 receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano.  $\bar{x} \pm dp$ : média amostral  $\pm$  desvio padrão; Letras diferentes (a, b, c) na coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias nas variáveis.

Em relação à sobrevida, uma maior infiltração de células CD83+ foi associada com uma maior SEC e SLP (Figura 24).



**Figura 24** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o nível de infiltração das células CD83+ no microambiente tumoral. Sobrevida específica do câncer de mama foi maior nos pacientes com nível alto de infiltração por CD83+ em relação à pacientes com nível baixo de infiltração por CD83+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,035$ ). Sobrevida livre de progressão foi maior nos pacientes com alto nível de infiltração por CD83+ em relação à pacientes com baixo nível observado até aproximadamente 80 meses. Após esse período, a SEC não mostrou diferenças entre os níveis alto e baixo de infiltração de células CD83+ no microambiente tumoral a (Log rank,  $p=0,056$ ).

Em relação às células CD208+, foi observado que casos sem a presença de necrose apresentaram uma maior infiltração de células CD208+ do que casos com necrose ( $p=0,0025$ ) (Tabela 14).

**Tabela 14 - Células CD208+ em correlação com dados clinicopatológicos (continua)**

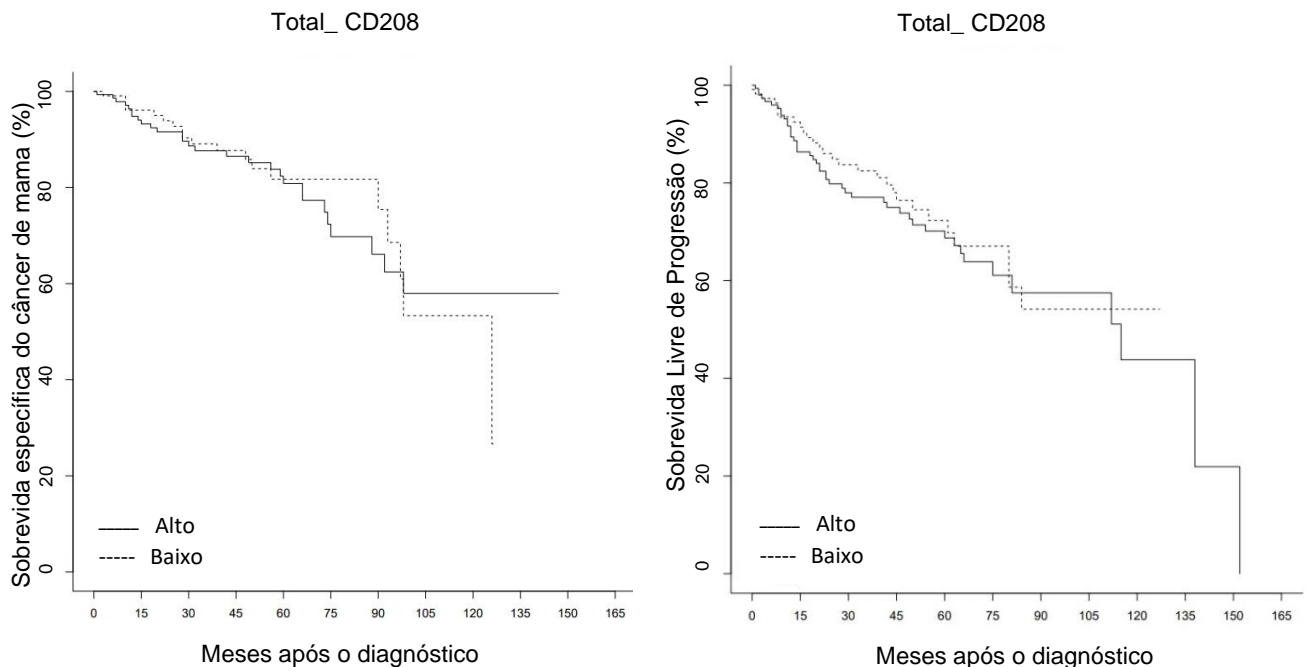
<b>Fatores clínicos</b>	<b>N (%)</b>	<b>T_CD208</b>	<b>S_CD208</b>	<b>Total_CD208</b>
<b>Lado</b>				
D	125 (49)	0,0	1,5 ± 4,1	1,6 ± 4,1
E	131 (51)	0,0	1,4 ± 3,9	1,4 ± 3,9
<b>T</b>				
T1	89 (34)	0,0	1,8 ± 4,8	1,8 ± 4,8
T2	93 (36)	0,0	1,5 ± 4,1	1,6 ± 4,1
T3	35 (13)	0,0	0,8 ± 1,7	0,8 ± 1,7
T4	43 (17)	0,0	0,9 ± 2,4	0,9 ± 2,4
<b>N</b>				
N0	121 (47)	0,0	1,8 ± 4,9	1,8 ± 4,9
N1	84 (32)	0,0	1,0 ± 2,5	1,0 ± 2,5
N2	43 (17)	0,0	0,9 ± 2,4	0,9 ± 2,4
N3	12 (5)	0,0	2,2 ± 3,6	2,2 ± 3,6
<b>M</b>				
M0	234 (89)	0,0	1,5 ± 4,0	1,5 ± 4,0
M1	28 (11)	0,0	1,2 ± 2,7	1,2 ± 2,7
<b>Necrose</b>				
NÃO	200 (88)	0,0 <sup>a</sup>	1,5 ± 4,2	1,5 ± 4,2
SIM	26 (12)	0,0 <sup>b</sup>	1,7 ± 3,9	1,7 ± 3,9
<b>Grau Nottingham</b>				
I	62 (24)	0,0	1,0 ± 3,5	1,0 ± 3,5
II	149 (57)	0,0	1,5 ± 3,7	1,5 ± 3,7
III	52 (20)	0,0	2,3 ± 5,4	2,3 ± 5,4
<b>RE</b>				
NEG	74 (28)	0,0	2,1 ± 3,7	2,1 ± 3,7
POS	191 (72)	0,0	1,3 ± 4,2	1,3 ± 4,2
<b>RP</b>				
NEG	90 (34)	0,0	2,0 ± 3,7	2,0 ± 3,7
POS	175 (66)	0,0	1,3 ± 4,2	1,3 ± 4,2
<b>HER2</b>				
NEG	184 (72)	0,0	1,2 ± 3,3	1,2 ± 3,3
POS	70 (28)	0,0	2,5 ± 5,4	2,5 ± 5,4

**Tabela 14** - Células CD208+ em correlação com dados clinicopatológicos (conclusão)

Subtipo molecular				
LUMINAL A	128 (50)	0,0	1,0 ± 3,4	1,0 ± 3,4
LUMINAL B	63 (24)	0,0	1,8 ± 5,2	1,8 ± 5,2
HER2_SUPEREXPRESSO	20 (8)	0,0	2,9 ± 4,2	2,9 ± 4,2
TRIPLO NEGATIVO	47 (18)	0,0	1,7 ± 3,5	1,7 ± 3,5

Abreviações: TOTAL\_CD208 células dendríticas CD208+ intratumoral, T\_CD208 células dendríticas CD208+ no leito tumoral, S\_CD208 células dendríticas no estroma peritumoral, D direito, E esquerdo, T extensão tamanho tumoral no sistema TMN, N extensão de metástase em linfonodo no sistema TNM, M extensão de metástase a distância no sistema TMN, RE receptor de estrogênio, RP receptor de progesterona, HER2 receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano.  $\bar{x} \pm dp$ : média amostral  $\pm$  desvio padrão; Letras diferentes (a, b, c) na coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias nas variáveis.

Em termos de prognóstico, a SEC não foi influenciada pelos níveis de infiltração de células CD208+ no microambiente tumoral (Figura 25). Da mesma forma, não houve diferenças significativas nas SLP em relação aos níveis de infiltração de células CD208+ no microambiente tumoral (Figura 25).



**Figura 25** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o nível de infiltração das células CD208+ no microambiente tumoral. Sobrevida específica do câncer de mama não mostrou diferenças entre as células CD208+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,80$ ). Similarmente, a sobrevida livre de progressão não mostrou diferenças entre os níveis alto e baixo de infiltração de células CD208+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,58$ ).

#### 4.3.3 Células Dendríticas Plasmocitoides

Em relação às células CD123+, houve diferenças estatisticamente significantes considerando o sistema TNM, grau de Nottingham, subtipos moleculares e estágio anatômico (tabela 15). Assim, verificamos que os tumores N3 apresentaram maior infiltração de células CD123+ do que tumores N0 ( $p=0,005$ ), N1 ( $p=0,008$ ) e N2 ( $p=0,01$ ). Os tumores N0, N1 e N2, apresentaram níveis similares de células CD123+. Considerando o grau histológico de Nottingham, tumores grau III apresentaram altos níveis de células CD123+ do que tumores grau II ( $p=0,002$ ) e grau I ( $p=0,01$ ), com estes dois últimos mostrando níveis similares. Em relação aos subtipos moleculares, o subtipo HER2 superexpresso mostrou maior número de células CD123+ do que todos os outros subtipos ( $p<0,01$ ), estes últimos em níveis similares. Considerando o estágio anatômico, o estágio IV apresentou altos níveis de infiltração de células CD123+, seguidos sequencialmente pelo estágio III ( $p=0,05$ ), estágio II ( $p=0,002$ ) e estágio I ( $p=0,001$ ).



**Tabela 15** - Células CD123+ em correlação com dados clinicopatológicos (continua)

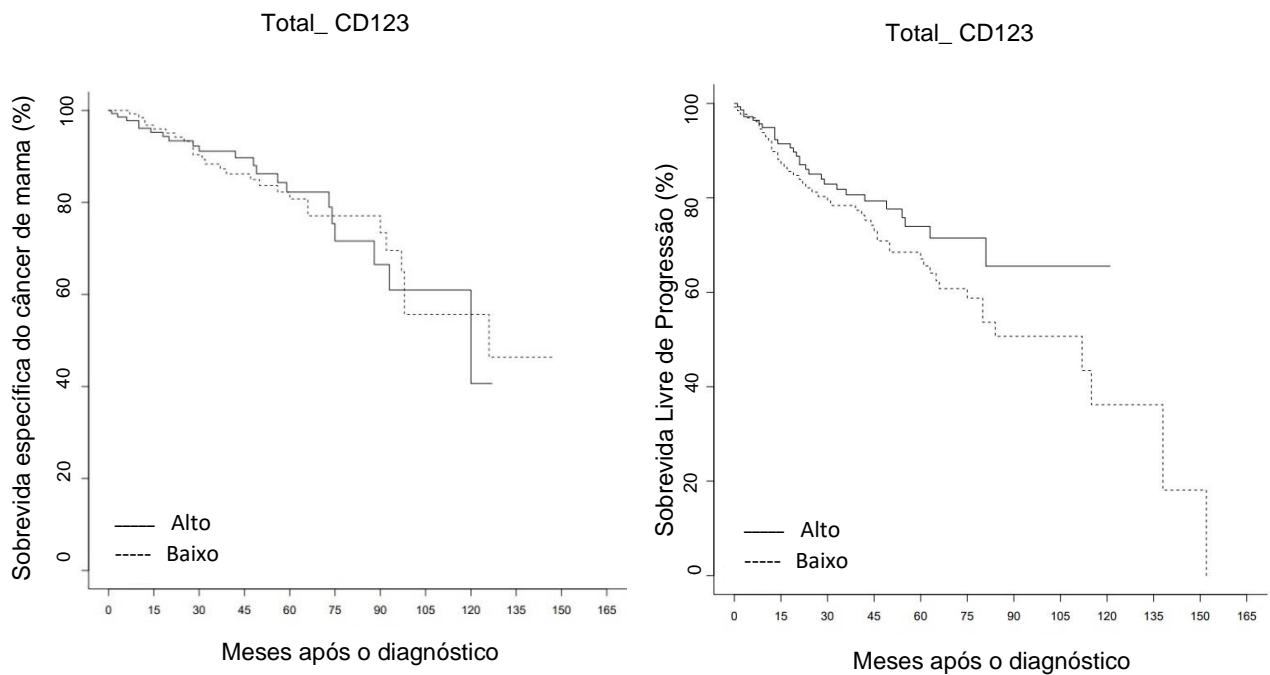
Fatores clínicos	N (%)	T_CD123	S_CD123	Total_CD123
<b>Lado</b>				
D	130 (49)	0,1 ± 0,4	2,3 ± 7,2	2,4 ± 7,3
E	136 (51)	0,1 ± 0,2	1,6 ± 3,8	1,7 ± 3,8
<b>T</b>				
T1	95 (35)	0,0 ± 0,1	2,4 ± 5,8	2,4 ± 5,9
T2	96 (35)	0,1 ± 0,3	2,3 ± 7,6	2,4 ± 7,6
T3	39 (14)	0,1 ± 0,5	1,1 ± 2,1	1,3 ± 2,2
T4	41 (15)	0,2 ± 0,5	1,2 ± 2,8	1,4 ± 3,0
<b>N</b>				
N0	129 (48)	0,0 ± 0,1	1,8 ± 3,9 <sup>b</sup>	1,8 ± 3,9 <sup>b</sup>
N1	88 (33)	0,1 ± 0,5	1,8 ± 4,6 <sup>b</sup>	2,0 ± 4,8 <sup>b</sup>
N2	41 (15)	0,1 ± 0,3	1,7 ± 4,5 <sup>b</sup>	1,8 ± 4,5 <sup>b</sup>
N3	12 (4)	0,0 ± 0,1	7,6 ± 19,6 <sup>a</sup>	7,6 ± 19,6 <sup>a</sup>
<b>M</b>				
M0	245 (90)	0,0 ± 0,2	1,8 ± 4,3	1,9 ± 4,4
M1	27 (10)	0,3 ± 0,7	3,5 ± 13,0	3,8 ± 13,0
<b>Estágio anatômico</b>				
I	59 (22)	0,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	2,6 ± 5,9	2,6 ± 5,9
II	113 (41)	0,0 ± 0,2 <sup>b</sup>	1,6 ± 3,6	1,6 ± 3,7
III	75 (27)	0,1 ± 0,3 <sup>b</sup>	1,7 ± 4,0	1,8 ± 4,0
IV	26 (10)	0,3 ± 0,8 <sup>a</sup>	3,6 ± 13,2	3,9 ± 13,2
<b>Necrose</b>				
NÃO	210 (89)	0,0 ± 0,2	2,1 ± 6,5	2,1 ± 6,5
SIM	26 (11)	0,1 ± 0,4	2,9 ± 5,7	3,1 ± 5,8
<b>Grau Nottingham</b>				
I	64 (23)	0,0 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,8 ± 1,9	0,8 ± 1,9
II	156 (57)	0,0 ± 0,3 <sup>b</sup>	2,8 ± 7,9	2,8 ± 7,9
III	53 (19)	0,2 ± 0,4 <sup>a</sup>	2,2 ± 3,1	2,5 ± 3,2

**Tabela 15** - Células CD123+ em correlação com dados clinicopatológicos (conclusão)

<b>RE</b>				
NEG	78 (28)	0,1 ± 0,4	3,2 ± 6,8	3,3 ± 6,9
POS	199 (72)	0,0 ± 0,3	1,8 ± 1,8	1,8 ± 5,9
<b>RP</b>				
NEG	94 (34)	0,1 ± 0,4	2,9 ± 6,4	3,1 ± 6,5
POS	181 (66)	0,0 ± 0,3	1,8 ± 6,1	1,8 ± 6,1
<b>HER2</b>				
NEG	188 (71)	0,1 ± 0,3	1,8 ± 5,9	1,8 ± 6,0
POS	75 (29)	0,1 ± 0,4	3,2 ± 7,1	3,3 ± 7,1
<b>Subtipo molecular</b>				
LUMINAL A	133 (49)	0,0 ± 0,1 <sup>b</sup>	1,7 ± 6,7 <sup>b</sup>	1,7 ± 6,7 <sup>b</sup>
LUMINAL B	65 (24)	0,1 ± 0,4	2,0 ± 4,0 <sup>b</sup>	2,1 ± 4,0
HER2_SUPEREXPRERSSO	23 (9)	0,0 ± 0,1	5,9 ± 10,7 <sup>a</sup>	6,0 ± 10,7 <sup>a</sup>
TRIPLO NEGATIVO	49 (18)	0,2 ± 0,5 <sup>a</sup>	2,1 ± 4,0	2,3 ± 4,3

Abreviações: TOTAL\_CD123 células dendríticas CD123+ intratumoral, T\_ CD123 células dendríticas CD208+ no leito tumoral, S\_ CD123 células dendríticas no estroma peritumoral, D direito, E esquerdo, T extensão tamanho tumoral no sistema TMN, N extensão de metástase em linfonodo no sistema TNM, M extensão de metástase a distância no sistema TMN, RE receptor de estrógeno, RP receptor de progesterona, HER2 receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano.  $\bar{x} \pm dp$ : média amostral  $\pm$  desvio padrão; Letras diferentes (a, b, c) na coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias nas variáveis

Em termos de prognóstico, a SEC não foi influenciada pelos níveis de infiltração de células CD123+ no microambiente tumoral (Figura 26). Da mesma forma, não houve diferenças significativas nas SLP em relação aos níveis de infiltração de células CD123+ no microambiente tumoral (Figura 26).



**Figura 26** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o nível de infiltração das células CD123+ no microambiente tumoral. Sobrevida específica do câncer de mama não mostrou diferenças entre as células CD123+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,98$ ). Similarmente, a sobrevida livre de progressão não mostrou diferenças entre os níveis alto e baixo de infiltração de células CD123+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,10$ ).

Em relação às células CD303, não foram observadas associações estatisticamente significantes com os dados clínico-patológicos nem com a sobrevida específica do câncer de mama, nem sobrevida livre de progressão (Tabela 16; Figura 27).

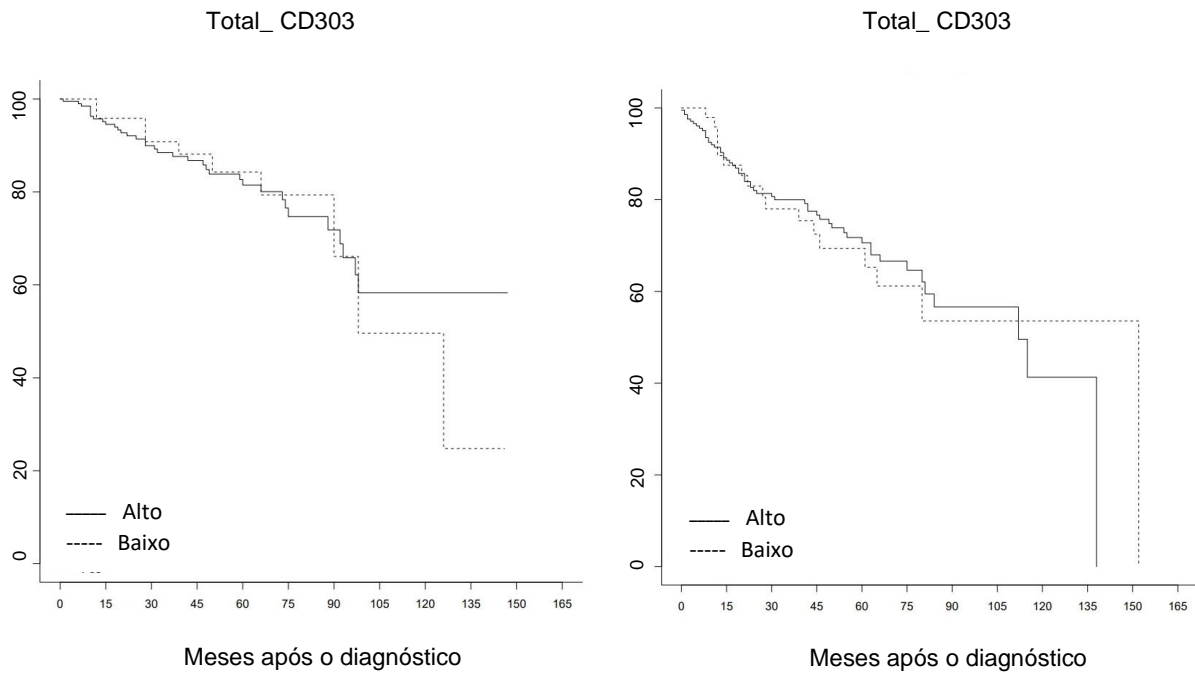
**Tabela 16** - Células CD303+ em correlação com dados clinicopatológicos (continua)

<b>Fatores clínicos</b>	<b>N (%)</b>	<b>T_CD303</b>	<b>S_CD303</b>	<b>Total_CD303</b>
<b>Lado</b>				
D	118 (47)	0,0	0,2 ± 0,6	0,2 ± 0,6
E	132 (53)	0,0	0,2 ± 0,9	0,2 ± 0,9
<b>T</b>				
T1	90 (36)	0,0	0,3 ± 1,2	0,3 ± 1,2
T2	85 (34)	0,0	0,2 ± 0,4	0,2 ± 0,5
T3	35 (14)	0,0	0,2 ± 0,7	0,2 ± 0,7
T4	41 (16)	0,0	0,2 ± 0,6	0,2 ± 0,6
<b>N</b>				
N0	116 (46)	0,0	0,2 ± 1,0	0,2 ± 1,0
N1	84 (33)	0,0	0,2 ± 0,7	0,2 ± 0,7
N2	40 (16)	0,0	0,1 ± 0,4	0,1 ± 0,4
N3	12 (5)	0,0	0,5 ± 0,8	0,5 ± 0,8
<b>M</b>				
M0	225 (88)	0,0	0,2 ± 0,8	0,2 ± 0,9
M1	30 (53)	0,0	0,1 ± 0,4	0,1 ± 0,4
<b>Estágio anatômico</b>				
I	55 (22)	0,0	0,5 ± 1,5	0,5 ± 1,5
II	101 (40)	0,0	0,2 ± 0,4	0,2 ± 0,4
III	70 (27)	0,0	0,2 ± 0,5	0,2 ± 0,5
IV	29 (11)	0,0	0,1 ± 0,4	0,1 ± 0,4
<b>Necrose</b>				
NÃO	193 (88)	0,0	0,2 ± 0,9	0,2 ± 0,9
SIM	26 (12)	0,0	0,2 ± 0,6	0,2 ± 0,6
<b>Grau Nottingham</b>				
I	57 (22)	0,0	0,1 ± 0,4	0,1 ± 0,4
II	148 (58)	0,0	0,3 ± 1,0	0,3 ± 1,0
III	51 (20)	0,0	0,2 ± 0,6	0,2 ± 0,7

**Tabela 16** - Células CD303+ em correlação com dados clinicopatológicos (conclusão)

<b>RE</b>				
NEG	73 (28)	0,0	0,3 ± 0,8	0,3 ± 0,8
POS	185 (72)	0,0	0,2 ± 0,8	0,2 ± 0,8
<b>RP</b>				
NEG	89 (34)	0,0	0,2 ± 0,9	0,2 ± 0,9
POS	169 (66)	0,0	0,2 ± 0,6	0,2 ± 0,6
<b>HER2</b>				
NEG	180 (73)	0,0	0,2 ± 0,8	0,2 ± 0,8
POS	67 (27)	0,0	0,2 ± 0,6	0,2 ± 0,6
<b>Subtipo molecular</b>				
LUMINAL A	124 (50)	0,0	0,2 ± 1,0	0,2 ± 1,0
LUMINAL B	58 (23)	0,0	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,3
HER2_SUPEREXPRERSSO	20 (8)	0,0	0,5 ± 1,0	0,5 ± 1,0
TRIPLO NEGATIVO	48 (19)	0,0	0,2 ± 0,7	0,2 ± 0,7

Abreviações: TOTAL\_CD303 células dendríticas CD303+ intratumoral, T\_ CD303 células dendríticas CD303+ no leito tumoral, S\_ CD303 células dendríticas no estroma peritumoral, D direito, E esquerdo, T extensão tamanho tumoral no sistema TMN, N extensão de metástase em linfonodo no sistema TNM, M extensão de metástase a distância no sistema TMN, RE receptor de estrógeno, RP receptor de progesterona, HER2 receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano.  $\bar{x} \pm dp$ : média amostral  $\pm$  desvio padrão; Não foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias de células nas variáveis



**Figura 27** - Curva de Kaplan-Meier de acordo com o nível de infiltração das células CD303+ no microambiente tumoral. Sobrevida específica do câncer de mama não mostrou diferenças entre as células CD303+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,94$ ). Similarmente, a sobrevida livre de progressão não mostrou diferenças entre os níveis alto e baixo de infiltração de células CD303+ no microambiente tumoral (Log rank,  $p=0,88$ ).

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Mulheres jovens estão associadas com fatores de piores prognósticos

No presente trabalho avaliamos as características clinicopatológicas de 431 casos de CI-TNE por faixa etária, em correlação com o perfil de CDs, incluindo o seu status de maturação ou ativação, visando identificar alvos terapêuticos e fatores prognósticos.

Considerando o sistema de classificação TNM no CI-TNE por faixa etária, no presente estudo observamos que T3 é mais frequente no G1, enquanto T1 é mais frequente no G3. Não há diferenças quando avaliamos T4 entre os grupos, no entanto, notamos um maior número de casos em G1. Quanto ao N, verificamos que 65,7% das mulheres do G1 apresentavam comprometimento nodal por ocasião do diagnóstico. De fato, N0 é mais frequente no G3, já N2 é mais frequente no G1. A presença de metástase a distância foi significativamente mais frequentes nas mulheres do G1 do que as mulheres do G2 e G3 (ambos,  $p=0,002$ ). Os nossos resultados corroboram com os estudos da literatura que sugerem que o câncer de mama em mulheres jovens esteja associado com estágios mais avançados, com T, N e M elevados (KATAOKA *et al.*, 2014; UNLU *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2018; ZOUZOULAS *et al.*, 2020).

Considerando o estágio anatômico no CI-TNE por faixa etária, o G1 foi mais comumente diagnosticado no estágio III, enquanto a maioria das mulheres nas demais faixas etárias foi diagnosticada no estágio II. Além disso, G1 apresentou significativamente menores frequências de estágio I (5,6%) em relação a G2 (12,2%) e G3(29,3%), bem como apresentou maiores frequências de estágio IV (21,5%) em relação ao G2 (9,6) e G3 (7,4%). Esses resultados estão em acordo com a pesquisa de Bharat *et al.* (2009) que comparando as características clinicopatológicas entre pacientes jovens (< 40 anos) e pacientes não jovens ( $\geq$  40 anos) identificou que mulheres jovens foram diagnosticadas em estágios mais avançados em relação as mais velhas (estágio II: 46% versus 31%; estágio III: 14% versus 5%). Similarmente, Kataoka *et al.* (2014) em uma coorte de 109.617 casos observaram que as pacientes jovens ( $\leq$ 35 anos) foram prováveis de serem diagnosticadas com tumores em estágios

mais avançados do que pacientes não jovens (> 35 anos). Essas proporções do estadiamento anatômico entre as mulheres jovens não parecem ser estáticas ao longo dos anos. Estudos tem observado que a incidência de metástase a distância em pacientes abaixo de 40 anos tem aumentado em taxa constante ou mesmo acelerada ao longo do tempo (JOHNSON *et al.*, 2013). O fato de as mulheres jovens apresentarem o câncer de mama em estágios mais avançados pode estar associado não só a prerrogativa de que tal grupo costuma receber o diagnóstico mais tardiamente, mas também, por apresentarem tumores biologicamente mais agressivos (FREDHOLM *et al.*, 2009). O diagnóstico mais tardio se deve em parte a não inclusão das mulheres jovens nos programas de rastreamento por mamografias. Além do atraso no diagnóstico, Fredholm *et al.* (2009) atribuem os estágios mais avançados neste grupo de faixa etária ao comportamento biológico intrinsecamente mais agressivo nas mulheres jovens. Na análise de sobrevida ajustada por idade, ele encontrou que entre as mulheres jovens (idade < 35 anos), o maior risco de morte estava no estágio I em relação aos demais estágios. Gnerlich *et al.* (2009), investigando diferenças na mortalidade entre mulheres jovens (< 40 anos) e mais velhas (>40 anos) ajustadas para demais fatores prognósticos encontraram que mulheres jovens são prováveis morrerem se diagnosticadas no estágio I ou II e menos provável morrer se diagnosticada no estágio IV, sugerindo que o fator idade afeta a sobrevida independentemente do estágio mais avançado.

Considerando o grau histológico de Nottingham, o grau II foi o mais prevalente nos três grupos, sendo 64% no G1, 61% no G2 e 56% no G3. O G1 apresentou significativamente menor frequência de neoplasias de grau I (9,3%), do que o grupo G2 (22,2%) e G3 (27,1%). Inversamente, as neoplasias de grau III foram mais frequentes no G1 (27,1%) do que G2 (17,1%) e G3 (16,3%). Os nossos resultados estão em acordo com a maioria dos estudos da literatura que reportam maiores frequências de tumores de alto grau nas pacientes jovens em relação as mais velhas (COLLEONI *et al.*, 2002; SAGHIR *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2018; BILENA *et al.*, 2021; YANG *et al.*, 2022). Alguns estudos, porém, não encontraram diferenças estatisticamente significantes entre pacientes jovens e mais velhas quanto ao grau histológico (ABDULLA *et al.*, 2022; AVCI *et al.*, 2022). Essas inconsistências na definição do grau histológico podem ser atribuídas às frequentes dificuldades de reprodutibilidade entre diferentes patologistas e serviços dados os componentes de subjetividade e diferenças técnicas inerentes aos exames (BOIESEN *et al.*, 2000; CSERNI *et al.*, 2022).



Áreas de necrose tumoral foram mais frequentemente observadas no G1 (17,4%), do que G2 (8,4%) e G3 (8,4%), embora estatisticamente não significante ( $p=0,059$ ). Alguns estudos têm associado a idade ao diagnóstico do câncer de mama com a ocorrência de necrose tumoral. Similar aos nossos resultados, Collins *et al.* (2011) identificaram que a necrose tumoral foi mais frequentemente encontrada entre as mulheres <30 anos (32%) quando comparada a mulheres entre 31 e 35 anos (14%) e mulheres de 36 a 40 anos (21%), contudo, sem alcançar significância estatística ( $p=0,06$ ). Já Nixon *et al.* (1994) estudando as características do câncer de mama e a sua relação com idade, identificaram um aumento da incidência de necrose em pacientes jovens ( $\leq 35$  anos) em relação as mais velhas. A presença de necrose sugere um tumor com taxas de crescimento tão elevadas que superam a sua capacidade nutricional, levando a morte celular. Supõe-se que tumores apresentando necrose estão sujeitos a uma maior velocidade de progressão que acaba levando a aquisição de propriedades malignas incluindo metástases, mecanismos de escape e resistências a drogas (GILCHRIST *et al.*, 1993). De fato, estudos independentes da idade têm associado a presença de necrose tumoral a um pior prognóstico, atuando como preditor independente para tempo para recidiva e sobrevida global (GILCHRIST *et al.*, 1993; MAIORANO *et al.*, 2009). A tendência de associação entre necrose e a idade ao diagnóstico pode dar indícios de que tumores em pacientes jovens tenham taxas de crescimento mais elevadas do que nas pacientes mais velhas.

Considerando os receptores hormonais, em todas as faixas etárias, a maioria apresentou tumores positivos para RH. No entanto, verificamos que quanto mais jovem é a paciente (G1), maior é a porcentagem de casos com expressão negativa do RE. Na análise do RP, não houve evidências de associação com as diferentes faixas etárias ( $p=0,26$ ). A maioria dos estudos na literatura revela que quanto mais jovem a paciente, menor é a expressão de RE e RP (NIXON *et al.*, 1994; COLLEONI *et al.*, 2006; BHARAT *et al.*, 2009, JOHNSON *et al.*, 2013; SOPIK *et al.*, 2017; YANG *et al.*, 2022). Em menor número, alguns estudos mostraram não haver diferença estatisticamente significativa na expressão de RH entre as faixas etárias (BOUFERRAA *et al.*, 2022; ADULLA *et al.*, 2022). Essas discordâncias pontuais podem ser atribuídas a particularidades da coorte empregada em cada estudo, tais como raça, hábitos culturais e comportamentos reprodutivos. A menor expressão de RH, sabidamente um fator de mau prognóstico, poderia ser responsabilizada pelo

prognóstico mais desfavorável atribuído às mulheres jovens. Entretanto, pesquisas verificaram que a idade jovem continua atuando como um fator prognóstico independente da expressão dos receptores hormonais (COLLEONI *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2015).

A frequência de tumores HER2 positivos manteve-se em torno dos 30% nas diferentes faixas etárias, isto é, sem diferenças entre os grupos ( $p=0,67$ ). A literatura tem apresentado resultados inconsistentes ao descrever esta relação. Murphy *et al.* (2019) relataram que mulheres jovens (<40 anos) apresentam maiores proporções de tumores HER2 positivo do que em mulheres mais velhas. Outros estudos, no entanto, não identificaram diferença na expressão de HER2 entre mulheres jovens e mulheres mais velhas (COLLEONI *et al.*, 2002; WANG *et al.*, 2015).

Quanto a distribuição dos subtipos moleculares, considerando todas as mulheres independentes da idade, observamos um predomínio na incidência do Luminal A, seguido pelo Luminal B, HER2 e Triplo negativo, corroborando com outros estudos da literatura (PANDIT *et al.*, 2020). Quando estratificamos por faixa etária, observamos que quanto mais jovem (G1), menor é a frequência do subtipo luminal A e maior é a frequência subtipo Triplo negativo, sendo estas características também observadas em outros estudos (PARTRIDGE *et al.*, 2016; PANDIT *et al.*, 2020; EIRIZ *et al.*, 2021; ORLANDINI *et al.*, 2021; YANG *et al.*, 2022). Pacientes não luminais e Triplo negativos têm sido relacionados com mau prognóstico em termos de sobrevida global e recidiva local e regional (VODUC *et al.* 2010; HENNIGS *et al.*, 2016). A distribuição dos subtipos moleculares observada nas faixas etárias poderia explicar a sobrevida pobre associada às pacientes jovens com câncer de mama. Contudo, estudos têm mostrado que tumores em mulheres jovens apresentam comportamentos biológicos distintos em relação às idosas, mesmo sendo do mesmo subtipo molecular. Partridge *et al.* (2016) analisando a independência da idade em relação aos subtipos moleculares encontrou que o efeito da idade na sobrevida específica do câncer foi estatisticamente significativa entre as mulheres com luminal A e Luminal B, mas não entre HER2 superexpresso nem Triplo negativo. Mais recentemente, outro estudo mostrou que mulheres muito jovens com câncer de mama tiveram pior prognóstico em relação às mulheres de maior idade, mesmo todas sendo do subtipo Luminal (YANG *et al.*, 2022), confirmando a independência do fator idade jovem em relação aos subtipos moleculares de pior prognóstico.

Quando analisamos a SEC verificamos que não houve diferença entre os grupos por faixa etária ( $p=0,13$ ). Em contraste, o grupo de mulheres jovens (G1) teve

uma SLP significativamente pior quando comparado com os outros dois grupos ( $p=0,0002$ ). Em conformidade com nossos achados, estudos têm correlacionado mulheres jovens a um pior prognóstico, principalmente sobrevida livre de doença (NIXON *et al.*, 1994; HAN *et al.*, 2004; BOUFERRAA *et al.*, 2022). A relação entre o fator idade jovem e a sobrevida global tem apresentado resultados inconsistentes na literatura (COLLEONI *et al.*, 2002; MAGGARD *et al.*, 2003; RAPITI *et al.*, 2005; CHUNG *et al.*, 2021; SUN *et al.*, 2022). Essa inconsistência talvez se deva às características específicas da coorte empregada em estudos institucionais. A análise de dados obtidos em estudos populacionais poderia ampliar o conhecimento sobre o efeito da idade ao diagnóstico sobre a sobrevida global.

## **5.2 Células de Langerhans (células dendríticas imaturas) estão associadas a fatores de mau prognóstico e são prevalentes no microambiente tumoral de mulheres jovens**

Independentemente da idade das pacientes, os nossos resultados confirmam a relação entre presença de CDs imaturas e os fatores de mau prognóstico. Verificamos diferenças estatisticamente significantes com o grau de Nottingham (maior número no grau III), o status de receptores hormonais (RH) (maior número nos tumores RH negativos), o subtipo molecular (maior número no Triplo negativo). Não houve, contudo, diferenças considerando SEC e SLP.

Lespagnard *et al.* (1999), também encontraram uma maior densidade de CDs S100+ em tumores de graus mais elevados e de status RH negativo, sugerindo que quanto menos diferenciado é o tumor, maior é a infiltração de CD S100+. Similarmente aos nossos achados, López *et al.* (2021), encontraram que tumores Triplo negativos apresentam maiores infiltrações de CDs S100+. Embora os tumores Triplo negativos apresentem os piores prognósticos devido às suas características clínicas e ausência de respostas a hormonioterapia, eles são considerados os tumores mais imunogênicos e com maiores concentrações de linfócitos infiltrantes de tumor (TILs) (GARCIA-TEIJIDO *et al.*, 2018). Não há estudos específicos sobre a associação da presença de células S100+ estromal e metástases à distância. Contudo, López *et al.*

(2020), estudando essa relação com metástase em linfonodos axilares, não encontrou nenhuma relação com células S100+ estromais. Pesquisas adicionais utilizando análise multivariada com outros fatores prognósticos poderão esclarecer melhor a relação entre a infiltração de células S100+ e a ocorrência de metástase. Semelhante aos nossos resultados, Lespagnard *et al.* (1999), não observaram qualquer relação entre S100 e a sobrevida global nem sobrevida livre de metástase. Em ambos os estudos, a maioria das pacientes foram submetidas a terapias adjuvantes sistêmicas (quimioterapia e/ou hormonioterapia) e/ou radioterapia que, se supõem, nivelam os resultados de sobrevidas.

Em relação às células CD1a+ e CD207+, houve diferenças estatisticamente significantes considerando o status da expressão de HER2 (maior número de ambas células nos tumores HER2 negativos), subtipo molecular (maior número de células CD1a+ no Triplo negativo) e metástase à distância (menor número de células CD207+ no M1). Similarmente aos nossos resultados, pesquisadores não encontraram nenhuma relação entre infiltração de CD1a e grau tumoral (HILLENBRAND *et al.*, 1999), nem com tamanho tumoral, receptores hormonais ou metástase em linfonodo (IWAMOTO *et al.*, 2003).

De modo geral, os nossos resultados mostram que os tumores Triplo negativos, os quais são pouco diferenciados, tendem a apresentar um microambiente imunológico ativo, porém, num estágio imaturo e tolerante. O tumor Triplo negativo tem sido considerado o mais imunogênico em relação aos demais subtipos, apresentando frequentemente maiores concentrações de linfócitos infiltrantes tumorais (TILs) sendo estes preditores de resposta a quimioterapia e sobrevida melhorada (ONO *et al.*, 2012; DIECI *et al.*, 2012; DENKERT *et al.*, 2014). A razão para isto, é que os triplos negativos apresentam maior instabilidade genética e uma maior carga mutacional. Consequentemente, apresentam significativamente mais neoantígenos do que outros subtipos moleculares, explicando sua imunogenicidade aumentada (NARANG *et al.*, 2019). Embora muitos estudos confirmem a forte relação entre Triplo negativo e TILs, poucos estudos focaram na relação entre os subtipos moleculares e as CDs. Lee *et al.* (2018), revelaram uma forte correlação entre CDs e a presença de linfócitos infiltrantes tumorais especificamente em tumores Triplo negativos. Diferentemente dos nossos resultados, Szpor *et al.* (2021) encontraram recentemente que as maiores infiltrações de CD1a+ estavam em Luminal B em relação ao Luminal A e HER2 superexpresso. As diferenças observadas nestas pesquisas podem ser explicadas, a princípio, pelas particularidades de cada coorte.

Isso mostra a importância de novos estudos populacionais que possam controlar variáveis de confusão, viés de seleção, interações e modificadores de efeito e, assim, ampliar o conhecimento neste tema.

Os nossos resultados não revelaram diferenças SEC e SLP em relação às infiltrações de CLs. Similarmente, Coventry e Morton (1999), não observaram diferenças estatisticamente significantes na sobrevida global em 5 anos pós-tratamento cirúrgico entre os níveis alto e baixo de CD1a infiltrantes, embora insinuem certa tendência ( $p=0,059$ ). Iwamoto *et al.* (2003), também não correlacionou a taxa de infiltração de CD1a com sobrevida global nem sobrevida livre de recidiva. Mais recentemente, entretanto, Giorello *et al.*, (2021), revelou que pacientes com alto número de CD1a+ intratumoral é fator prognóstico independente para maiores sobrevida livre de metástase (SLM), sobrevida livre de metástase óssea (SLMO) e sobrevida global (SG). Szpor *et al.* (2021), demonstrou que pacientes com tumores altamente infiltrados por CD1a apresentam maior SLP.

Considerando a distribuição de CLs nos grupos de faixas etárias, de maneira geral, observamos que as CLs são prevalentes no G1 quando comparado com G2/G3, sendo significativo apenas para S100+. Similarmente, Lespagnard *et al.* (1999), observaram uma correlação estatisticamente significativa, embora fraca, entre número de células S100+ e a idade (coeficiente de Spearman,  $r = -0,19$ ).

Uma abundância de pesquisas tem se empenhado na descrição do perfil de células dendríticas presentes no microambiente tumoral do câncer de mama e as suas implicações no prognóstico. Da mesma forma, também existe uma infinidade de pesquisas pontuando os aspectos de senescência das células dendríticas, contudo, em indivíduos saudáveis. Para o melhor do nosso conhecimento, não foram encontrados na literatura estudos específicos sobre o perfil imunológico no microambiente tumoral do câncer de mama em diferentes faixas etárias.

Estudos de imunosenescência têm mostrado evidências de alterações nos parâmetros imunológicos conforme a idade, porém, em tecidos saudáveis. Os resultados mais consistentes referem-se a uma redução do número de CLs na pele e conjuntiva que acompanha pacientes idosos saudáveis (GILCHREST *et al.*, 1982; GHERSETICH; LOTTI, 1994; SHURIN *et al.*, 2007; ZEGARSKA *et al.*, 2017; HASEGAWA *et al.*, 2020). Análise do sangue periférico de pessoas saudáveis demonstrou que o número de CDs mieloides circulantes declinou progressivamente

com a idade (DELLA BELLA *et al.*, 2007). Além das reduções do número das CLs na pele e no sangue, estudos têm revelado diferenças funcionais em CDs nos indivíduos em diferentes idades. Della Bella *et al.* (2007) avaliando o sangue periférico de pessoas saudáveis demonstrou que as CDs de indivíduos idosos parecem ter um fenótipo mais maduro (expressão de CD83) em relação aos jovens. Segundo Della Bella *et al.* (2007), as mulheres jovens tendem a apresentar uma melhor dendropoiese com maior frequência de CD precursoras (CD34+) do que idosos, o que justificaria em parte o maior número de CLs nesse grupo.

Além dos fatores associados a senescência, há o papel do próprio tumor no direcionamento de ativação e maturação das CDs através dos mecanismos de escape tumoral. Evidências sugerem que citocinas imunossupressivas tais como IL-10 e TNF- $\alpha$  produzidas pelas células neoplásicas inibem a maturação de CDs no microambiente tumoral (KIM *et al.*, 2006). Além disso, o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) também secretado pelo tumor atua como quimioatrativo para células mieloides imaturas oriunda da medula óssea que dão origem a CDs imaturas no microambiente tumoral. Essas CDs imaturas, por uma série de mecanismos descritos por Kim *et al.* (2006), falham em induzir a células T *naïve* durante apresentação de antígeno, favorecendo em última instância a imunotolerância e o escape tumoral. Teoricamente, pacientes jovens, tendo um maior número de CDs imaturas no microambiente tumoral, poderia gerar um desbalanço imune mais intenso, favorecendo ainda mais o escape tumoral do que as pacientes idosas. A avaliação dos fatores e quimiocinas envolvidas no escape tumoral nos diferentes grupos poderia trazer informações sobre as consequências da maior infiltração de CDs imaturas sobre a progressão tumoral.

### **5.3 Células dendríticas maduras estão associadas a fatores de bom prognóstico e são prevalentes no microambiente tumoral de mulheres idosas**

Em relação à infiltração de CDs maduras no microambiente tumoral, verificamos que CD83+ está associado com menores tamanhos tumorais, menores graus histopatológicos, com subtipos luminiais, além de maior sobrevida e menor risco de metástase. Similarmente, Giorello *et al.* (2021) relataram que número elevado de CD83+ intratumoral está relacionado com tumores menores. Em relação ao

comprometimento nodal, Iwamoto *et al.* (2003) reportaram que o número de CD83+ foi inversamente correlacionado com metástase em linfonodo, em concordância com os nossos resultados.

Em relação aos status do RH, um significativo maior número de células CD83+ foi observado nos casos RH+ do que RH- (para ambos RE e RP). Iwamoto *et al.* (2003) não encontrou correlação entre CD83 e receptores hormonais. Essas contradições observadas nos resultados podem estar relacionadas a diferenças na metodologia para detecção das células dendríticas. Nós aplicamos a imuno-histoquímica em tecidos embebidos em parafina previamente fixados em formol, enquanto que Iwamoto *et al.* (2003), utilizou tecido congelado.

Considerando os subtipos moleculares, o subtipo Luminal A mostrou infiltração de células CD83+ significativamente maior do que do subtipo Triplo negativo. Em concordância com nossos resultados, Szpor *et al.* (2021), encontraram infiltrados de CD83+ mais densos em tumores luminais do que em não-luminais, corroborando a ideia de que altos números de CD83+ no estroma intratumoral esteja relacionado com fatores de melhor prognóstico.

Nós mostramos que tumores com necrose mostraram significativamente menor infiltração de células CD83+ e CD208+ do que casos sem necrose. A necrose tumoral costuma ocorrer em tumores sólidos avançados e está associada com prognóstico pobre em diversos tumores, incluindo câncer de mama (GILCHRIST *et al.*, 1993; RICHARDS *et al.*, 2011). Poucos estudos na literatura correlacionam células dendríticas com necrose tumoral. É reconhecido, porém, que a morte celular por necrose resulta na liberação de fatores pró-inflamatórios que atraem células inflamatórias para o microambiente tumoral. Lin *et al.* (2010), propõe que componentes inflamatórios presentes no microambiente podem ser responsáveis pela reversão do estado de maturação de células dendríticas favorecendo ambiente imunossupressivo e, conseqüentemente, a progressão tumoral.

Em relação ao grau tumoral, casos com grau III mostraram níveis significativamente menores de células CD83+ do que casos com grau I/grau II. Recentes estudos não têm encontrado diferenças estatísticas significantes na infiltração de células CD83 em relação ao grau tumoral (Giorello *et al.*, 2021; Szpor *et al.*, 2021).

Em relação à sobrevida, uma maior infiltração de células CD83+ foi associada com uma maior SEC ( $p=0,03$ ) e SLP ( $p=0,056$ ). Iwamoto *et al.* (2003), também encontraram que quanto maior é a infiltração por CD83+, melhor é a taxa de SG e sobrevida livre de recidiva (SLR), sendo considerado um fator prognóstico independente. Mais recentemente, Giorello *et al.* (2021) também reportaram uma significativa associação entre números elevados de CD83+ e melhores prognósticos, tais como maiores sobrevida livre de doença (SLD), sobrevida livre de metástase (SLM) e sobrevida global (SG), atuando como um fator prognóstico independente para SLD e SG. Todos esses resultados, incluindo os nossos, sugerem que CD83+ em câncer de mama está associado com melhores prognósticos.

Com relação a imunosenescência das CDs, Della Bella *et al.* (2007) analisando CDs circulantes de pessoas com idades variando entre 20 e 92 anos, verificaram que os indivíduos idosos apresentaram CDs com fenótipo mais maduro e prejuízo na secreção de IL-12 sob estímulo. O fenótipo mais maduro de CDs também foi observado em linfonodos que drenam pulmões e mucosa de indivíduos idosos (GRANOT *et al.*, 2017). Della Bella *et al.* (2007) mostraram haver um aumento de CDs expressando CD83 e CD208 nos idosos, caracterizando um perfil de células dendríticas maduras. Agrawal *et al.* (2017) observaram que CDs de indivíduos idosos secretam níveis basais de citocinas pró-inflamatórias que mantêm as CDs em estado ativado e fenótipo maduro. De modo geral, esses estudos sobre senescência de CDs indicam que à medida que idade avança, verifica-se uma redução das CLs e um aumento na CDs maduras. No microambiente tumoral, os nossos resultados mostraram que as mulheres idosas tendem a apresentar proporcionalmente maior número de CDs maduras em relação as imaturas. É possível que este padrão seja o reflexo do padrão observado na imunosenescência das células dendríticas. É consenso que a ativação e maturação das CDs nas mulheres idosas é sustentada por uma maior atividade inflamatória que é normalmente encontrado em indivíduos idosos. De fato, estudos tem demonstrado que em pacientes idosos nota-se um aumento na quantidade de citocinas pró inflamatórias tais como IL-6, IL-18 e TNF-  $\alpha$  e menos quantidade de citocinas anti-inflamatórias tais como IL-10 quando comparados com sujeitos mais jovens (DELLA BELLA *et al.*, 2007; JING *et al.*, 2009; CIARAMELLA *et al.*, 2011).

Outra questão importante refere-se ao mecanismo de escape impetrado pelo tumor sobre o estado de maturação das células dendríticas. É possível que os tumores nas mulheres idosas falham em dirigir as CDs para um perfil mais imaturo do que as



mulheres jovens em virtude de déficit funcional das células dendríticas. Estudos revelam que existem prejuízos na capacidade de captar e processar antígenos, bem como na ativação dos linfócitos T (GUPTA *et al.*, 2015; ZACCA *et al.*, 2015). Curiosamente, a capacidade das CDs em expressar MHC e moléculas e co-estimulatórias não é prejudicada com a idade (LUNG *et al.*, 2000; AGRAWAL *et al.*, 2017). Novos estudos que avaliem as citocinas e fatores envolvidos na imunoevasão tumoral entre os grupos de faixa etária são importantes para ampliar o conhecimento nesta área.

É fato que as CDs maduras são de grande importância na iniciação e regulação da resposta imune adaptativa. As CDs CD83+ apresentam habilidade única na apresentação de antígeno para linfócitos T helper e citotóxicos em órgão linfóides secundários. Assim, a presença de maior número de CDs maduras nos tumores de mulheres adultas e idosas poderia supor uma resposta imune adaptativa mais efetiva para regular o crescimento e a progressão tumoral em relação às jovens. Entretanto, não podemos inferir essa relação entre número de CDs e resultados no controle da progressão tumoral, uma vez que não avaliamos a capacidade funcional das CDs maduras neste contexto.

#### **5.4 Células dendríticas plasmocitóides estão associados a fatores de mau prognóstico e são prevalentes nas mulheres jovens**

A infiltração de CDp em tumores de mama, independentemente da idade, tem se correlacionado a fatores de pior prognóstico. No nosso trabalho, verificamos que tumores N3 apresentaram infiltração de células CD123+ significativamente maior do que tumores N0/N1/N2, estes últimos apresentando níveis similares. Do mesmo modo, tumores grau III apresentaram níveis de células CD123+ maiores do que tumores grau I/grau II, com estes últimos mostrando níveis similares. O estágio anatômico IV apresentou altos níveis de infiltração de células CD123+, seguido sequencialmente pelo estágio III, estágio II e estágio I. Em relação aos subtipos moleculares, o subtipo HER2 superexpresso mostrou significativo maior número de células CD123+ do que todos os outros subtipos (os quais mostraram níveis

similares).

Em acordo com os nossos resultados, Sisirak *et al.* (2012), observaram maiores quantidades de CDp em tumores mais agressivos caracterizados por elevado índice mitótico. Quanto a metástases, Gadalla *et al.* (2019), reportaram que infiltração de CDp em câncer de mama é maior nos pacientes com linfonodos positivos do que linfonodos negativos. Eles observaram que os linfonodos positivos para metástase expressavam intensamente o fator 1 derivado de células estromais (SDF-1) que, por sua vez, acionavam maior número de células tumorais expressando receptor de quimiocina CXCR4. Eles provaram que TNF- $\alpha$  secretado pelas células CD123+ é o responsável pela ativação do fator de transcrição NF-Kb que promove a expressão de CXCR4 nas células do câncer de mama, favorecendo a metástase e a progressão tumoral.

Em acordo com os nossos resultados, Ghirelli *et al.* (2015) também observaram aumento significativo de CDp (CD123+) associado a subtipos mais agressivos (Luminal B, Her2 superexpresso e Triplo negativo) em relação a não-agressivos (Lumina A). Nesse trabalho, os autores agruparam os três subtipos mais agressivos em único subgrupo, não sendo possível a distinção entre eles. Sisirak *et al.* (2012) dividindo os subtipos moleculares em dois subgrupos (Triplo negativo e Não-Triplo negativo) observaram maiores quantidades de CDp em tumores do subgrupo Triplo negativo. Esse resultado foi semelhante ao nosso quando analisamos o compartimento tumoral, onde a densidade de CDp foi significativamente maior no Triplo negativo do que luminal A, corroborando a idéia de que as CDp estão associadas a pior prognóstico. Quando consideramos o microambiente tumoral total, o nosso trabalho destaca a presença de CD123 predominante no subtipo HER2 superexpresso. É conhecido que tumores HER2 amplificados representam cerca de 30% dos cânceres de mama e que estão associados a mau prognóstico, incluindo correlação positiva com metástase. A presença aumentada de CD123 especificamente em tumores HER2 observada no nosso trabalho pode estar simplesmente marcando um subconjunto de câncer de mama intrinsecamente agressivo com propensão para metástases. Por outro lado, a presença de CDp nos tumores HER2 superexpresso pode ter um papel na progressão e metástase destes tumores. Interessante que Li *et al.* (2004) observaram que CXCR4, um receptor promovido pela CDp, possui um papel na metástase especificamente dos tumores HER2 superexpresso.

Embora Treilleaux *et al.* (2004) não tenham encontrado relação entre a presença de CDp e o estágio nodal, o tamanho tumoral, o grau tumoral e o status de receptor hormonal, eles identificaram CD123+ como sendo um fator prognóstico adverso para Sobrevida global e Sobrevida livre de recidiva (análise univariada e multivariada). Eles verificaram que a sobrevida global aos 58 meses foi 93% no subgrupo CDp-negativo *versus* 73% no subgrupo CDp-positivo. A sobrevida livre de recidiva aos 58 meses foi 89% no subgrupo CDp-negativo *versus* 37% no subgrupo CDp-positivo. López *et al.* (2022), encontraram que pacientes com níveis elevados de CD123 tanto no tumor primário quanto no linfonodo comprometido apresentaram tempo para progressão mais curto. Embora os nossos resultados não tenham mostrado diferenças estatisticamente significantes na SEC nem na SLP, é possível visualizar a curva de Kaplan-Meier ligeiramente mais ingrime na SLP para pacientes CD123+ ( $p=0,10$ ). Além disso, observamos a SLP estimada aos 5 anos pós-diagnóstico foi 74% para pacientes CD123 negativos *versus* 67% para pacientes CD123 positivos, mostrando uma tendência para menos SLP, embora não significativa.

Com relação à distribuição das CDp entre os grupos de faixa etária, verificamos que as células CD123+ localizadas junto as células neoplásicas no G1 foram significativamente mais frequentes quando comparadas com G2/G3. Quanto as CDp CD303+ não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. O estudo mostra que as CDp foram mais frequentemente observadas nos tumores de mulheres mais jovens, sabidamente de pior prognóstico. É possível que as CDp estejam apenas marcando tumores de piores prognósticos. Novos estudos com análise multivariada ajustadas para outros fatores clinicopatológicos são necessários para melhor entender o papel da CDp na progressão tumoral das mulheres jovens

O efeito da idade sobre a infiltração de CDp em tumores de mama não tem sido objeto de estudos na literatura. Contudo, pesquisas sobre o efeito da idade sobre a quantidade de CDp em indivíduos sadios têm sido realizadas e os resultados são conflitantes. Alguns autores, avaliando amostras de sangue total periférico, não observaram diferenças no número de CDp entre jovens e velhos (DELLA BELA *et al.*, 2007; AGRAWAL *et al.* 2007). Por outro lado, pesquisas avaliando contagens de CDp em sangue periférico através de citometria de fluxo têm mostrado uma redução no número de CDp em indivíduos mais velhos em comparação com mais jovens

(SHODELL; SIEGAL, 2002; JING *et al.*, 2009). É possível que o maior número de CDp encontrado nas mulheres jovens, em relação às idosas, seja um reflexo da imunosenescência natural das CDp. Além da deficiência numérica, estudos têm mostrado uma redução consistente na produção e secreção de interferon tipo 1 (IFN-1) em resposta a estímulos virais (JING *et al.*, 2009; WONG; GOLDSTEIN, 2013; AGRAWAL, 2013; VAN SPLUNTER *et al.*, 2019). Além disso, as CDp de mulheres em menopausa produzem menos IFN- $\alpha$  do que de mulheres em pré-menopausa após estimulação do TLR-7/8 (SEILLET *et al.*, 2011). É possível que as capacidades funcionais das CDp preservadas nas mulheres jovens estejam de alguma forma colaborando com o sucesso do escape tumoral neste grupo. As CDp têm sido responsabilizadas pelo escape do câncer de mama durante o processo de imunovigilância. Um estudo demonstrou que o fator transformador do crescimento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) e o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) presentes no microambiente do câncer de mama prejudicam a função de CDp na produção de interferon tipo I (IFN-1) (SISIRAK *et al.*, 2012). Essa inibição do IFN-1 no microambiente tumoral induz a CDp a expandir seletivamente células T regulatórias (Treg) FOX3+. Além disso, CDp em fase de maturação no microambiente do câncer de mama aumenta a expressão do ligante da molécula co-estimuladora indutível (ICOS-L) que também contribui para que as células T se tornem Tregs produtoras de IL-10 (ITO *et al.*, 2007; FAGET *et al.*, 2012). Isso favorece o acúmulo de células T imunossupressivas no microambiente tumoral, prejudicando a resposta imune antitumor. De forma complementar, Ghirelli *et al.* (2015) identificou que o fator estimulador de colônia de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) produzido pelas próprias células tumorais conseguia ativar CDp na promoção de resposta Th2 regulatória. As CDp também têm sido implicadas no favorecimento de metástase através da via CXCR4/ SDF-1 (GADALA *et al.*, 2019). A produção de IFN-1 pelas CDp ativa a via de sinalização NF- $\kappa$ B nas células tumorais. Com isso, aumenta-se a expressão de CXCR-4 nas células neoplásicas, que em última instância favorece as metástases para os órgãos ricos em SDF-1 (HELBIG *et al.*, 2003; Gadalla *et al.*, 2019). Todo esse ambiente imunossupressivo criado pelas próprias células tumorais contribui para a progressão tumoral.

## 6 CONCLUSÃO

No presente trabalho analisamos as características clinicopatológicas de 431 casos de carcinoma ductal invasivo por faixa etária, em correlação com o perfil de CDs, visando avaliar as suas características clinicopatológicas e fatores prognósticos, bem como identificar possíveis alvos terapêuticos. Observamos que G1 apresentou um pior prognóstico quando comparado com G2 e G3, confirmando dados de estudos prévios.

Por IHQ, de maneira geral, observamos que CLs são prevalentes no G1 quando comparado com G2 e G3. Diferentemente, as CDs maduras são prevalentes no G3 do que G1 e G2, sendo significativo somente para CD83. Relevantemente, as CDp CD123+ foram significativamente prevalentes no G1 quando comparado com G2 e G3

Os nossos resultados sugerem que a imunoterapia pode ser relevante em pacientes jovens com câncer de mama, especificamente visando à depleção de CDp e estimulando mecanismos de ativação ou maturação de subgrupos de CDs (CLs), com impacto terapêutico e prognóstico. Além disso, esforços precisam ser direcionados na criação de estratégias terapêuticas capazes de contornar as vias supressivas ativadas pelas próprias células tumorais no microambiente tumoral.

## REFERÊNCIAS

A MAGGARD, Melinda; O'CONNELL, Jessica B; LANE, Karen e; LIU, Jerome H; A ETZIONI, David; KO, Clifford y. Do young breast cancer patients have worse outcomes? **Journal Of Surgical Research**, [S.L.], v. 113, n. 1, p. 109-113, jul. 2003. Elsevier BV. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s0022-4804\(03\)00179-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0022-4804(03)00179-3). Acesso em: 09 nov. 2022.

ABDULLA, K. P., *et al.* "Is Young Age an Independent Prognostic Factor in Carcinoma Breast? A Single-Institution Retrospective Comparative Study from South India". **Indian Journal of Surgical Oncology**, junho de 2022. DOI.org (Crossref), Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13193-022-01542-6>. Acesso em: 09 nov. 2022.

AGRAWAL, Anshu *et al.* Altered Innate Immune Functioning of Dendritic Cells in Elderly Humans: a role of phosphoinositide 3-kinase-signaling pathway. **The Journal Of Immunology**, [S.L.], v. 178, n. 11, p. 6912-6922, 18 maio 2007. DOI 10.4049/jimmunol.178.11.6912. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.178.11.6912>. Acesso em: 29 out. 2022.

AGRAWAL, Anshu. Mechanisms and Implications of Age-Associated Impaired Innate Interferon Secretion by Dendritic Cells: a mini-review. **Gerontology**, [S.L.], v. 59, n. 5, p. 421-426, 2013. DOI 10.1159/000350536. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1159/000350536>. Acesso em: 27 out. 2022.

AGRAWAL, Anshu *et al.* Role of Dendritic Cells in Inflammation and Loss of Tolerance in the Elderly. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 8, p. 1-8, 26 jul. 2017. DOI 10.3389/fimmu.2017.00896. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2017.00896>. Acesso em: 04 nov. 2022.

ALLEMANI, Claudia *et al.* Global surveillance of trends in cancer survival 2000–14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 :513 :025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. **The Lancet**, [S.L.], v. 391, n. 10125, p. 1023-1075, mar. 2018. DOI 10.1016/s0140-6736(17)33326-3. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(17\)33326-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(17)33326-3). Acesso em: 31 out. 2022.

ALLISON, Kimberly H. *et al.* Estrogen and progesterone receptor testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline update. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, [s.l.], v. 144, n. 5, p. 545-563, May 2020. DOI 10.5858/arpa.2019-0904-sa. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5858/arpa.2019-0904-sa>. Acesso em: 07 out. 2022.

AMON, Lukas *et al.* The ontogenetic path of human dendritic cells. **Molecular**

**Immunology**, [S.L.], v. 120, p. 122-129, abr. 2020. DOI 10.1016/j.molimm.2020.02.010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2020.02.010>. Acesso em: 06 set 2022.

ANDERS, Carey K. *et al.* Young age at diagnosis correlates with worse prognosis and defines a subset of breast cancers with shared patterns of gene expression. **Journal of Clinical Oncology**: an American Society of Clinical Oncology Journal, [s.l.], v. 26, n. 20, p. 3324-3330, July 10, 2008. DOI 10.1200/jco.2007.14.2471. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2007.14.2471>. Acesso em: 06 set. 2022.

ANDERS, Carey K. *et al.* Breast cancer before age 40 years. **Seminars in Oncology** [s.l.], v. 36, n. 3, p. 237-249, June 2009. DOI 10.1053/j.seminoncol.2009.03.001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1053/j.seminoncol.2009.03.001>. Acesso em: 06 set. 2022.

ARAKHA, Emad *et al.* Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. **Breast Cancer Research**, [S.L.], v. 12, n. 4, p. 1-12, 30 jul. 2010. DOI 10.1186/bcr2607. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/bcr2607>. Acesso em: 18 mar. 2022.

AVCI, Okan; TACAR, Seheryildiz; SEBER, Erdoganselçuk; YETISYIGIT, Tarkan. Breast cancer in young and very young women; Is age related to outcome? **Journal Of Cancer Research And Therapeutics**, [S.L.], v. 17, n. 6, p. 1322-1327, 2021. DOI 10.4103/jcrt.jcrt\_545\_20. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.4103/jcrt.jcrt\\_545\\_20](http://dx.doi.org/10.4103/jcrt.jcrt_545_20). Acesso em: 16 out. 2022.

BANCHEREAU, Jacques; STEINMAN, Ralph M. Dendritic cells and the control of immunity. **Nature**, [s.l.], v. 392, n. 6673, p. 245-252, Mar. 19, 1998. DOI 10.1038/32588. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/32588>. Acesso em: 06 set. 2022.

BANCHEREAU, Jacques *et al.* Immunobiology of Dendritic Cells. **Annual Review Of Immunology**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 767-811, abr. 2000. DOI 10.1146/annurev.immunol.18.1.767. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.18.1.767>. Acesso em: 01 nov. 2022.

BANKHEAD, Peter *et al.* QuPath: open source software for digital pathology image analysis. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 7, n. 16878, p. 1-7, Dec. 2017. DOI 10.1038/s41598-017-17204-5. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-17204-5>. Acesso em: 06 set. 2022.

BARTLETT, John M.s *et al.* Estrogen Receptor and Progesterone Receptor as Predictive Biomarkers of Response to Endocrine Therapy: a prospectively powered pathology study in the tamoxifen and exemestane adjuvant multinational trial. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 29, n. 12, p. 1531-1538, 20 abr. 2011. DOI 10.1200/jco.2010.30.3677. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2010.30.3677>. Acesso em: 06 out. 2022.

BARNES, Dm *et al.* Immunohistochemical determination of oestrogen receptor: comparison of different methods of assessment of staining and correlation with clinical outcome of breast cancer patients. **British Journal of Cancer**, [s.l.], v. 74, n. 9, p. 1445-1451, Nov. 1996. DOI 10.1038/bjc.1996.563. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.1996.563>. Acesso em: 06 set. 2022.

BASU, Amrita *et al.* Immunotherapy in breast cancer: current status and future directions. **Advances In Cancer Research**, [S.L.], p. 295-349, 2019. DOI 10.1016/bs.acr.2019.03.006. Acesso em: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.acr.2019.03.006>. Disponível em: 09 nov 2022.

BATES, Joshua P. *et al.* Mechanisms of immune evasion in breast cancer. **Bmc Cancer**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 1-14, 11 maio 2018. DOI 10.1186/s12885-018-4441-3. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12885-018-4441-3>. Acesso em: 01 nov. 2022.

BAYRAKTAR, Soley *et al.* Stefan. Immunotherapy in breast cancer. **Journal Of Carcinogenesis**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 2, 2019. DOI 10.4103/jcar.jcar\_2\_19. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.4103/jcar.jcar\\_2\\_19](http://dx.doi.org/10.4103/jcar.jcar_2_19). Acesso em: 01 nov. 2022.

BELL, Diana *et al.* In breast carcinoma tissue, immature dendritic cells reside within the tumor, whereas mature dendritic cells are located in peritumoral areas. **Journal of Experimental Medicine**, [s.l.], v. 190, n. 10, p. 1417-1426, Nov. 15, 1999. DOI 10.1084/jem.190.10.1417. Disponível em: <https://doi.org/10.1084/jem.190.10.1417>. Acesso em: 06 set. 2022.

BHARAT, Ankit; AFT, Rebecca L.; GAO, Feng; MARGENTHALER, Julie A.. Patient and tumor characteristics associated with increased mortality in young women ( $\leq 40$  years) with breast cancer. **Journal Of Surgical Oncology**, [S.L.], v. 100, n. 3, p. 248-251, 27 mar. 2009. DOI 10.1002/jso.21268. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/jso.21268>. Acesso em: 15 out. 2022.

BILLENA, Cole; WILGUCKI, Molly; FLYNN, Jessica; MODLIN, Leslie; TADROS, Audree; RAZAVI, Pedram; BRAUNSTEIN, Lior Z.; GILLESPIE, Erin; CAHLON, Oren; MCCORMICK, Beryl. 10-Year Breast Cancer Outcomes in Women  $\leq 35$  Years of Age. **International Journal Of Radiation Oncology\*Biophysics**, [S.L.], v. 109, n. 4, p. 1007-1018, mar. 2021. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijrobp.2020.10.022>. Acesso em: 15 out. 2022.

BLOWS, Fiona M., *et al.* "Subtyping of Breast Cancer by Immunohistochemistry to Investigate a Relationship between Subtype and Short and Long Term Survival: A Collaborative Analysis of Data for 10,159 Cases from 12 Studies". **PLoS Medicine**, organizado por Francesco M. Marincola, v. 7, n. 5, maio de 2010, p. e1000279. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000279>.

BOIESEN, P., BENDAHL, P.O, ANAGNOSTAKI, L., DOMANSKI, H., HOLM, E., IDVALL, I., JOHANSSON, S., LJUNGBERG, O., RINGBERG, A., OSTBERG, G., FERNÖ, M. Histologic grading in breast cancer--reproducibility between seven pathologic departments. South Sweden Breast Cancer Group. **Acta Oncol.** 2000; vol.39, n.1, p.41-5. Disponível em: doi: 10.1080/028418600430950. PMID: 10752652. Acesso em: 17 out 2022.



BOUFERRAA, Youssef, *et al.* "The Impact of Young Age (< 40 Years) on the Outcome of a Cohort of Patients with Primary Non-Metastatic Breast Cancer: Analysis of 10-Year Survival of a Prospective Study". **BMC Cancer**, vol. 22, no 1, dezembro de 2022, p. 27. DOI. 10.1186/s12885-021-09100-z. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12885-021-09100-z>. Acesso em: 17 out 2022.

BRAY, Freddie *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a Cancer Journal for Clinicians**, [s.l.], v. 68, n. 6, p. 394-424, Nov./Dec. 2018. DOI 10.3322/caac.21492. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21492>. Acesso em: 06 set. 2022.

BRENNER, Darren R. *et al.* Breast cancer survival among young women: a review of the role of modifiable lifestyle factors. **Cancer Causes & Control**, [S.L.], v. 27, n. 4, p. 459-472, 12 mar. 2016. DOI 10.1007/s10552-016-0726-5. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10552-016-0726-5>. Acesso em: 18 out 2022.

BRETON, Gaëlle *et al.* Circulating precursors of human CD1c+ and CD141+ dendritic cells. **Journal of Experimental Medicine**, [s.l.], v. 212, n. 3, p. 401-413, Feb. 16, 2015. DOI 10.1084/jem.20141441. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20141441>. Acesso em: 06 set. 2022.

BREWER, Hannah R. *et al.* Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. **Breast Cancer Research And Treatment**, [S.L.], v. 165, n. 1, p. 193-200, 3 jun. 2017. DOI 10.1007/s10549-017-4325-2. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-017-4325-2>. Acesso em: 29 set 2022.

BRIERLEY, James, et al., organizadores. **TNM classification of malignant tumours**. Eighth edition, John Wiley & Sons, Inc, 2017.

BHUSHAN, M. *et al.* Tumour necrosis factor- $\alpha$ -induced migration of human Langerhans cells: the influence of ageing. **British Journal Of Dermatology**, [S.L.], v. 146, n. 1, p. 32-40, jan. 2002. DOI 10.1046/j.1365-2133.2002.04549.x. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2133.2002.04549.x>. Acesso em: 29 out. 2022.

BUYS, Sandra S. *et al.* A study of over 35,000 women with breast cancer tested with a 25-gene panel of hereditary cancer genes. **Cancer**, [S.L.], v. 123, n. 10, p. 1721-1730, 13 jan. 2017. DOI 10.1002/cncr.30498. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.30498>. Acesso em: 29 set. 2022.

CAMERON, David. Removing the primary tumour in metastatic breast cancer. **The Lancet Oncology**, [S.L.], v. 16, n. 13, p. 1284-1285, out. 2015. DOI 10.1016/s1470-2045(15)00221-1. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045\(15\)00221-1](http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045(15)00221-1). Acesso em: 13 out 2022.

CHAN, A. *et al.* Breast cancer in women  $\leq 35$  years: review of 1002 cases from a single institution. **Annals of Oncology**, [s.l.], v. 11, n. 10, p. 1255-1262, Oct. 2000. DOI 10.1023/a:1008391401404. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1023/a:1008391401404>. Acesso em: 06 set. 2022.

CHEANG, M. et al. Ki67 Index, HER2 Status, and Prognosis of Patients With Luminal B Breast Cancer. **Jnci: Journal of the National Cancer Institute**, [S.L.], v. 101, n. 10, p. 736-750, 20 maio 2009. DOI 1093/jnci/djp082. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/djp082>. Acesso em: 03 out. 2022.

CHECKA, Cristina M *et al.* The Relationship of Mammographic Density and Age: implications for breast cancer screening. **American Journal of Roentgenology**, [S.L.], v. 198, n. 3, p. 292-295, mar. 2012. DOI 10.2214/ajr.10.6049. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2214/ajr.10.6049>. Acesso em: 18 nov. 2022.

CHEN, Hai-long *et al.* Effect of age on breast cancer patient prognoses: a population-based study using the SEER 18 database. **PLoS One**, [s.l.], v. 11, n. 10, p. 1-11, Oct. 31, 2016. DOI 10.1371/journal.pone.0165409. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0165409>. Acesso em: 06 set. 2022.

CHUNG, Wei-Pang *et al.* The prognosis of early-stage breast cancer in extremely young female patients. **Medicine**, [S.L.], v. 100, n. 1, p. 1-7, 8 jan. 2021. DOI 10.1097/md.0000000000024076. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/md.0000000000024076>. Acesso em: 07 out.2022

CIARAMELLA, Antonio *et al.* Effect of age on surface molecules and cytokine expression in human dendritic cells. **Cellular Immunology**, [S.L.], v. 269, n. 2, p. 82-89, jan. 2011. DOI 10.1016/j.cellimm.2011.04.010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellimm.2011.04.010>. Acesso em: 22 out 2022.

COLLEONI, M. *et al.* Very young women (<35 years) with operable breast cancer: features of disease at presentation. **Annals of Oncology**, [s.l.], v. 13, n. 2, p. 273-279, Feb. 20, 2002. DOI 10.1093/annonc/mdf039. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdf039>. Acesso em: 06 set. 2022.

COLLEONI, M. *et al.* Role of endocrine responsiveness and adjuvant therapy in very young women (below 35 years) with operable breast cancer and node negative disease. **Annals Of Oncology**, [S.L.], v. 17, n. 10, p. 1497-1503, out. 2006. DOI 10.1093/annonc/mdl145. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdl145>. Acesso em: 02 nov. 2022.

COLLINS, L. C.; MAROTTI, J. D.; GELBER, S.; COLE, K.; RUDDY, K.; KEREAKOGLOW, S.; BRACHTEL, E. F.; SCHAPIRA, L.; COME, S. E.; WINER, E. P. Pathologic features and molecular phenotype by patient age in a large cohort of young women with breast cancer. **Breast Cancer Research And Treatment**, [S.L.], v. 131, n. 3, p. 1061-1066, 13 nov. 2011. DOI 10.1007/s10549-011-1872-9. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-011-1872-9>. Acesso em: 15 out. 2022.

COLONNA, Marco; TRINCHIERI, Giorgio; LIU, Yong-Jun. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. **Nature Immunology**, [s.l.], v. 5, n. 12, p. 1219-1226, Dec. 2004. DOI 10.1038/ni1141. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/ni1141>. Acesso em: 06 set. 2022.

COVENTRY, B J; MORTON, J. CD1a-positive infiltrating-dendritic cell density and 5-year survival from human breast cancer. **British Journal Of Cancer**, [S.L.], v. 89, n. 3, p. 533-538, 29 jul. 2003. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjc.6601114>. Acesso em: 09 nov. 2022.

CSERNI, Bálint *et al.* ONEST (Observers Needed to Evaluate Subjective Tests) suggests four or more observers for a reliable assessment of the consistency of histological grading of invasive breast carcinoma: a reproducibility study with a retrospective view on previous studies. **Pathology - Research And Practice**, [S.L.], v. 229, p. 153718, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prp.2021.153718>

CUI, X. *et al.* Biology of Progesterone Receptor Loss in Breast Cancer and Its Implications for Endocrine Therapy. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 23, n. 30, p. 7721-7735, 20 out. 2005. DOI 10.1200/jco.2005.09.004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2005.09.004>. Acesso em: 13 out. 2022.

CUMBERBATCH, Marie; DEARMAN, Rebecca J.; KIMBER, Ian. Influence of ageing on Langerhans cell migration in mice: identification of a putative deficiency of epidermal interleukin-1beta. **Immunology**, [S.L.], v. 105, n. 4, p. 466-477, abr. 2002. DOI 10.1046/j.1365-2567.2002.01381.x. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2567.2002.01381.x>. Acesso em: 29 out. 2022.

CUNHA, Alessandra da. Pattern response of dendritic cells in the tumor microenvironment and breast cancer. **World Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 5, n. 3, p. 495, 2014. DOI 10.5306/wjco.v5.i3.495. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5306/wjco.v5.i3.495>. Acesso em: 01 nov. 2022.

DAKO. **HercepTest™, Code K5204**: for immunocytochemical staining. 12<sup>th</sup> ed. PD04086US\_02/K520421-5, Revisão: Mar. 2020. Disponível em: [https://www.agilent.com/cs/library/packageinsert/public/PD04086US\\_02.pdf](https://www.agilent.com/cs/library/packageinsert/public/PD04086US_02.pdf). Acesso em: 06 set. 2022.

DELLA BELLA, Silvia *et al.* Peripheral blood dendritic cells and monocytes are differently regulated in the elderly. **Clinical Immunology**, [S.L.], v. 122, n. 2, p. 220-228, fev. 2007. DOI 10.1016/j.clim.2006.09.012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2006.09.012>. Acesso em: 29 out 2022.

DENKERT, Carsten. The immunogenicity of breast cancer: molecular subtypes matter. **Annals of Oncology**, [s.l.], v. 25, n. 8, p. 1453-1455, Aug. 01, 2014. DOI 10.1093/annonc/mdu235. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdu235>. Acesso em: 06 set. 2022.

DENKERT, Carsten *et al.* Tumor-Associated Lymphocytes As an Independent Predictor of Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 105-113, 1 jan. 2010. DOI 10.1200/jco.2009.23.7370. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2009.23.7370>. Acesso em: 01 nov. 2022.

DEVERICKS, Emily N *et al.* The obesity-breast cancer link: a multidisciplinary perspective. **Cancer And Metastasis Reviews**, [S.L.], v. 41, n. 3, p. 607-625, 25 jun.

2022. DOI 10.1007/s10555-022-10043-5. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10555-022-10043-5>. Acesso em: 27 set. 2022.

DHESY-THIND, Sukhbinder *et al.* Use of Adjuvant Bisphosphonates and Other Bone-Modifying Agents in Breast Cancer: a cancer care ontario and american society of clinical oncology clinical practice guideline. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 35, n. 18, p. 2062-2081, 20 jun. 2017. DOI 10.1200/jco.2016.70.7257. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2016.70.7257>. Acesso em: 13 out. 2022.

DIECI, M.V. *et al.* Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for triple-negative breast cancer: a retrospective multicenter study. **Annals Of Oncology**, [S.L.], v. 25, n. 3, p. 611-618, mar. 2014. DOI 10.1093/annonc/mdt556. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdt556>. Acesso em: 22 out. 2022.

DUDEK, Aleksandra M. *et al.* Immature, semi-mature, and fully mature dendritic cells: toward a DC-cancer cells interface that augments anticancer immunity. **Frontiers in Immunology**, [s.l.], v. 4, n. 438, p. 1-14, Dec. 2013. DOI 10.3389/fimmu.2013.00438. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2013.00438>. Acesso em: 06 set. 2022.

DUNN, Gavin P. *et al.* Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. **Nature Immunology**, [s.l.], v. 3, n. 11, p. 991-998, Nov. 2002. DOI 10.1038/ni1102-991. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/ni1102-991>. Acesso em: 06 set. 2022.

EDGE SB *et al.*, (editors). **AJCC cancer staging manual**, 7th edition. France: Springer; 2010. ISBN 978-0-387-88440-0. Disponível em: <http://www.springer.com/medicine/surgery/book/978-0-387-88440-0>. Acesso em: 22 out. 2022.

EIRIZ, I.F.; BATISTA, M. Vaz; TOMÁS, T. Cruz; NEVES, M.T.; GUERRA-PEREIRA, N.; BRAGA, S.. Breast cancer in very young women—a multicenter 10-year experience. **Esmo Open**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 1-7, fev. 2021. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.esmoop.2020.100029>. Acesso em: 22 out. 2022.

ELSTON, C. W.; ELLIS, I. O. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. **Histopathology**, [s.l.], v. 19, n. 5, p. 403-410, Nov. 1991. DOI 10.1111/j.1365-2559.1991.tb00229.x. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2559.1991.tb00229.x>. Acesso em: 06 set. 2022.

ERIĆ, I. Breast Cancer in Young Women: Pathologic and Immunohistochemical Features. **Acta Clinica Croatica**, [s.l.], v. 57, n. 3, Mar. 2018, p. 497–502. DOI 10.20471/acc.2018.57.03.13. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/article/PMC6536281/?report=reader>. Acesso em: 27 set. 2022.

FAGET, Julien *et al.* ICOS-ligand expression on plasmacytoid dendritic cells supports breast cancer progression by promoting the accumulation of immunosuppressive CD4+ T cells. **Cancer Research**, [s.l.], v. 72, n. 23, p. 6130-6141, Dec. 01, 2012.

DOI 10.1158/0008-5472.can-12-2409. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-12-2409>. Acesso em: 06 set. 2022.

FERLAY, Jacques *et al.* Cancer statistics for the year 2020: an overview. **International Journal Of Cancer**, [S.L.], v. 149, n. 4, p. 778-789, 22 abr. 2021. DOI 10.1002/ijc.33588. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.33588>. Acesso em: 04 out 2022.

FISHER, Edwin R. *et al.* C.. The pathology of invasive breast cancer A Syllabus Derived from Findings of the National Surgical Adjuvant Breast Project (Protocol No. 4). **Cancer**, [S.L.], v. 36, n. 1, p. 1-85, jul. 1975. DOI 10.1002/1097-0142(197507)36:13.0.co;2-4. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142\(197507\)36:13.0.co;2-4](http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142(197507)36:13.0.co;2-4). Acesso em 23 out 2022.

FLEURIER, C. *et al.* Cancer du sein chez les patientes de moins de 40 ans: présentation et caractéristiques évolutives. **Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie**, [s.l.], v. 46, n. 2, p. 105-111, Feb. 2018. DOI 10.1016/j.gofs.2017.12.012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gofs.2017.12.012>. Acesso em: 06 set. 2022.

FREDHOLM, Hanna *et al.* Breast cancer in young women: poor survival despite intensive treatment. **PLoS One**, [s.l.], v. 4, n. 11, p. 1-9, Nov. 2009. DOI 10.1371/journal.pone.0007695. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0007695>. Acesso em: 05 mar. 2018.

FRIDMAN, Wolf Herman *et al.* The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. **Nature Reviews Cancer**, [s.l.], v. 12, n. 4, p. 298-306, Mar. 15, 2012. DOI 10.1038/nrc3245. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrc3245>. Acesso em: 06 set. 2022.

GADALLA, Ramy; HASSAN, Hebatallah; IBRAHIM, Sherif Abdelaziz; ABDULLAH, Mahmoud Salah; GABALLAH, Ahmed; GREVE, Burkhard; EL-DEEB, Somaya; EL-SHINAWI, Mohamed; MOHAMED, Mona Mostafa. Tumor microenvironmental plasmacytoid dendritic cells contribute to breast cancer lymph node metastasis via CXCR4/SDF-1 axis. **Breast Cancer Research And Treatment**, [S.L.], v. 174, n. 3, p. 679-691, 10 jan. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-019-05129-8>.

GARCÍA-TEIJIDO, Paula *et al.* Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Triple Negative Breast Cancer: the future of immune targeting. **Clinical Medicine Insights: Oncology**, [S.L.], v. 101, p. 31-39, jan. 2016. DOI 10.4137/cmo.s34540. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4137/cmo.s34540>. Acesso em: 20 out. 2022.

GBD 2017 CAUSES OF DEATH COLLABORATORS. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. **The Lancet**, [s.l.], v. 392, n. 10159, p. 1736-1788, Nov. 10, 2018. Global Health Metrics. DOI 10.1016/s0140-6736(18)32203-7. Disponível em:

[http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(18\)32203-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(18)32203-7). Acesso em: 06 set. 2022.

GHERSETICH, Ilaria; LOTTI, Torello. Alpha-Interferon Cream Restores Decreased Levels of Langerhans/indeterminate (CD1a+) Cells in Aged and PUVA-Treated Skin. **Skin Pharmacology And Physiology**, [S.L.], v. 7, n. 3, p. 118-120, 1994. DOI 10.1159/000211285. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1159/000211285>. Acesso em: 28 out. 2022.

GILCHREST, Barbara A. *et al.* Effect of Chronologic Aging and Ultraviolet Irradiation on Langerhans Cells in Human Epidermis. **Journal Of Investigative Dermatology**, [S.L.], v. 79, n. 2, p. 85-88, ago. 1982. DOI 10.1111/1523-1747.ep12500031. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/1523-1747.ep12500031>. Acesso em: 28 out 2022.

GILCHRIST, K W *et al.* Tumor necrosis is a prognostic predictor for early recurrence and death in lymph node-positive breast cancer: a 10-year follow-up study of 728 eastern cooperative oncology group patients.. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 11, n. 10, p. 1929-1935, out. 1993. DOI 10.1200/jco.1993.11.10.1929. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.1993.11.10.1929>. Acesso em: 16 out. 2022.

GIORELLO, María Belén; MATAS, Ayelén; MARENCO, Pablo; DAVIES, Kevin Mauro; BORZONE, Francisco Raúl; CALCAGNO, María de Luján; GARCÍA-RIVELLO, Hernán; WERNICKE, Alejandra; MARTINEZ, Leandro Marcelo; LABOVSKY, Vivian. CD1a- and CD83-positive dendritic cells as prognostic markers of metastasis development in early breast cancer patients. **Breast Cancer**, [S.L.], v. 28, n. 6, p. 1328-1339, 9 jul. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12282-021-01270-9>. Acesso em: 16 out. 2022.

GHIPELLI, Cristina; REYAL, Fabien; JEANMOUGIN, Marine; ZOLLINGER, Raphaël; SIRVEN, Philémon; MICHEA, Paula; CAUX, Christophe; BENDRISS-VERMARE, Nathalie; DONNADIEU, Marie-Hélène; CALY, Martial. Breast Cancer Cell-Derived GM-CSF Licenses Regulatory Th2 Induction by Plasmacytoid Predendritic Cells in Aggressive Disease Subtypes. **Cancer Research**, [S.L.], v. 75, n. 14, p. 2775-2787, 14 jul. 2015. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-14-2386>.

GNERLICH, Jennifer L. *et al.* Elevated breast cancer mortality in women younger than age 40 years compared with older women is attributed to poorer survival in early-stage disease. **Journal of the American College of Surgeons**, [s.l.], v. 208, n. 3, p. 341-347, Mar. 2009. DOI 10.1016/j.jamcollsurg.2008.12.001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2008.12.001>. Acesso em: 06 set. 2022.

GOLDHIRSCH, A. *et al.* Thresholds for therapies: highlights of the st gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. **Annals Of Oncology**, [S.L.], v. 20, n. 8, p. 1319-1329, ago. DOI 10.1093/annonc/mdp322 Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdp322>. Acesso em: 06 out. 2022.

GOLDHIRSCH, A.; WINER, E.P.; COATES, A.s.; GELBER, R.D.; PICCART-GEBHART, M.; THÜRLIMANN, B.; SENN, H.-J.; ALBAIN, Kathy S.; ANDRÉ, Fabrice;

BERGH, Jonas. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the st gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2013. **Annals Of Oncology**, [S.L.], v. 24, n. 9, p. 2206-2223, set. 2013. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdt303>. Acesso em: 06 out. 2022.

GOLDHIRSCH, A. *et al.* Strategies for subtypes – dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. **Annals of Oncology**, [s.l.], v. 22, n. 8, p. 1736-1747, Aug. 01, 2011. DOI 10.1093/annonc/mdr304. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdr304>. Acesso em: 06 set. 2022.

GOLDHIRSCH, A. *et al.* Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. **Annals of Oncology**, [s.l.], v. 24, n. 9, p. 2206-2223, Sep. 01, 2013. DOI 10.1093/annonc/mdt303. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdt303>. Acesso em: 06 set. 2022.

GOURGOU-BOURGADE, S. *et al.* Guidelines for time-to-event end point definitions in breast cancer trials: results of the DATECAN initiative (*Definition for the Assessment of Time-to-event Endpoints in CANcer trials*). **Annals of Oncology**, [s.l.], v. 26, n. 5, p. 873-879, May 01, 2015. DOI 10.1093/annonc/mdv106. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdv106>. Acesso em: 06 set. 2022.

GRANOT, Tomer; SENDA, Takashi; CARPENTER, Dustin J.; MATSUOKA, Nobuhide; WEINER, Joshua; GORDON, Claire L.; MIRON, Michelle; KUMAR, Brahma V.; GRIESEMER, Adam; HO, Siu-Hong. Dendritic Cells Display Subset and Tissue-Specific Maturation Dynamics over Human Life. **Immunity**, [S.L.], v. 46, n. 3, p. 504-515, mar. 2017. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2017.02.019>. Acesso em: 06 set. 2022.

GROLLEAU-JULIUS, Annabelle *et al.* Impaired Dendritic Cell Function in Aging Leads to Defective Antitumor Immunity. **Cancer Research**, [S.L.], v. 68, n. 15, p. 6341-6349, 1 ago. 2008. DOI 10.1158/0008-5472.can-07-5769. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-07-5769>. Acesso em: 29 out. 2022.

GROUP, The Endogenous Hormones And Breast Cancer Collaborative. Endogenous Sex Hormones and Breast Cancer in Postmenopausal Women: reanalysis of nine prospective studies. **Cancerspectrum Knowledge Environment**, [S.L.], v. 94, n. 8, p. 606-616, 17 abr. 2002. DOI 10.1093/jnci/94.8.606. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/94.8.606>. Acesso em: 28 out. 2022.

GUPTA, Sudhir. Role of dendritic cells in innate and adaptive immune response in human aging. **Experimental Gerontology**, [S.L.], v. 54, p. 47-52, jun. 2014. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.exger.2013.12.009>. Acesso em: 28 out. 2022.

HAMMOND, M. *et al.* American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of

Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 28, n. 16, p. 2784-2795, 1 jun. 2010. DOI 10.1200/jco.2009.25.6529. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2009.25.6529>. Acesso em: 06 out. 2022.

HAN, Wonshik *et al.* Young age: an independent risk factor for disease-free survival in women with operable breast cancer. **BMC Cancer**, [s.l.], v. 4, n. 82, p. 1-8, Nov. 17, 2004. DOI 10.1186/1471-2407-4-82. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2407-4-82>. Acesso em: 06 out. 2022.

HAN, Wonshik; KANG, So Young. Relationship between age at diagnosis and outcome of premenopausal breast cancer: age less than 35 years is a reasonable cut-off for defining young age-onset breast cancer. **Breast Cancer Research And Treatment**, [S.L.], v. 119, n. 1, p. 193-200, 7 abr. 2009. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-009-0388-z>. Acesso em: 06 out. 2022.

HASSON, Shira Peleg *et al.* Comparison of Patient Susceptibility Genes Across Breast Cancer: implications for prognosis and therapeutic outcomes. **Pharmacogenomics And Personalized Medicine**, [S.L.], v. 13, p. 227-238, jul. 2020. DOI 10.2147/pgpm.s233485. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2147/pgpm.s233485>. Acesso em: 29 set. 2022.

HARTLEY, Michael C. *et al.* Differential expression of prognostic factors and effect on survival in young ( $\leq 40$ ) breast cancer patients: a case-control study. **The American Surgeon**, [s.l.], v. 72, n. 12, p. 1189-1195, Dec. 01, 2006. DOI 10.1177/000313480607201208. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/000313480607201208>. Acesso em: 06 set. 2022.

HASEGAWA, Tatsuya *et al.* Reduction in Human Epidermal Langerhans Cells with Age Is Associated with Decline in CXCL14-Mediated Recruitment of CD14+ Monocytes. **Journal Of Investigative Dermatology**, [S.L.], v. 140, n. 7, p. 1327-1334, jul. 2020. DOI 10.1016/j.jid.2019.11.017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jid.2019.11.017>. Acesso em: 28 out. 2022.

HASHIMOTO, Ken. Langerhans' cell granule: an endocytotic organelle. **Archives of Dermatology**, [s.l.], v. 104, n. 2, p. 148-160, Aug. 1971. DOI 10.1001/archderm.1971.04000200036007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1001/archderm.1971.04000200036007>. Acesso em: 06 set. 2022.

HELBIG, Gregory; CHRISTOPHERSON, Kent W.; BHAT-NAKSHATRI, Poornima; KUMAR, Suresh; KISHIMOTO, Hiromitsu; MILLER, Kathy D.; BROXMEYER, Hal E.; NAKSHATRI, Harikrishna. NF- $\kappa$  B Promotes Breast Cancer Cell Migration and Metastasis by Inducing the Expression. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 278, n. 24, p. 21631-21638, jun. 2003. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m300609200>. Acesso em: 06 set. 2022.

HENNIGS, André *et al.* Prognosis of breast cancer molecular subtypes in routine clinical care: a large prospective cohort study. **Bmc Cancer**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 1-9, 15 set. 2016. DOI 10.1186/s12885-016-2766-3. <http://dx.doi.org/10.1186/s12885-016-2766-3>. Acesso em: 02 nov. 2022.



HILLENBRAND, E e; NEVILLE, A M; COVENTRY, B J. Immunohistochemical localization of CD1a-positive putative dendritic cells in human breast tumours. **British Journal Of Cancer**, [S.L.], v. 79, n. 5-6, p. 940-944, 29 jan. 1999. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjc.6690150>. Acesso em: 02 nov. 2022.

HORISAWA, Nanae *et al.* The frequency of low HER2 expression in breast cancer and a comparison of prognosis between patients with HER2-low and HER2-negative breast cancer by HR status. **Breast Cancer**, [S.L.], v. 29, n. 2, p. 234-241, 7 out. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12282-021-01303-3>.

HOWLADER, N. (ed.) *et al.* **SEER Cancer Statistics Review (CSR)**, 1975-2014. Bethesda, MD, USA: National Cancer Institute (NCI), 2017. Disponível em: [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2014/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/). Acesso em: 06 set. 2022.

HUGH, Judith *et al.* Breast Cancer Subtypes and Response to Docetaxel in Node-Positive Breast Cancer: use of an immunohistochemical definition in the bcirg 001 trial. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 27, n. 8, p. 1168-1176, 10 mar. 2009. DOI 10.1200/JCO.2008.18.1024. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2008.18.1024>. Acesso em: 03 out 2022.

HULTSTRAND, J. N. *et al.* Hormonal contraception and risk of breast cancer and breast cancer in situ among Swedish women 15–34 years of age: a nationwide register-based study. **The Lancet Regional Health - Europe**, [S.L.], v. 21, p. 100470, out. 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lanepe.2022.100470>. Acesso em: 20 set. 2022.

HURWITZ, Arthur A.; WATKINS, Stephanie K.. Immune suppression in the tumor microenvironment: a role for dendritic cell-mediated tolerization of t cells. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, [S.L.], v. 61, n. 2, p. 289-293, 12 jan. 2012. DOIS 10.1007/s00262-011-1181-5. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00262-011-1181-5>. Acesso em: 25 out 2022.

IKPATT, Offiongfrancis, et al. “Prognostic Value of Necrosis in Nigerian Breast Cancer”. *Advances in Clinical Pathology*. **The Official Journal of Adriatic Society of Pathology**, vol. 6, no 1, janeiro de 2002, p. 31–37. PMID: 17582946. Disponível em: [http:// https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17582946/](http://https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17582946/). Acesso em: 16 out. 2022.

ITO, Tomoki *et al.* Plasmacytoid dendritic cells prime IL-10–producing T regulatory cells by inducible costimulator ligand. **Journal Of Experimental Medicine**, [S.L.], v. 204, n. 1, p. 105-115, 2 jan. 2007. DOI 10.1084/jem.20061660. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20061660>. Aceso em 26 out. 2022.

IWAMOTO, Mitsuhiko *et al.* Prognostic value of tumor-infiltrating dendritic cells expressing CD83 in human breast carcinomas. **International Journal of Cancer**, [s.l.], v. 104, n. 1, p. 92-97, Mar. 10, 2003. DOI 10.1002/ijc.10915. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.10915>. Acesso em: 06 set. 2022.

JAROENSRI, Ronnchai *et al.* Deep learning models for histologic grading of breast cancer and association with disease prognosis. **Npj Breast Cancer**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-12, 4 out. 2022. DOI 10.1038/s41523-022-00478-y. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41523-022-00478-y>. Acesso em: 31 out 2022.

JIMBOW, Kowich *et al.* Cells containing Langerhans granules in human lymph nodes of dermatopathic lymphadenopathy. **The Journal of Investigative Dermatology**, [s.l.], v. 53, n. 4, p. 295-299, Oct. 1969. DOI 10.1038/jid.1969.150. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/jid.1969.150>. Acesso em: 06 set. 2022.

JING, Yu *et al.* Aging is associated with a numerical and functional decline in plasmacytoid dendritic cells, whereas myeloid dendritic cells are relatively unaltered in human peripheral blood. **Human Immunology**, [S.L.], v. 70, n. 10, p. 777-784, out. 2009. DOI 10.1016/j.humimm.2009.07.005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2009.07.005>. Acesso em: 29 out. 2022.

JOHNSON, Rebecca H.; CHIEN, Franklin L.; BLEYER, Archie. Incidence of Breast Cancer With Distant Involvement Among Women in the United States, 1976 to 2009. **Jama**, [S.L.], v. 309, n. 8, p. 800-805, 27 fev. 2013. DOI 10.1001/jama.2013.776. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2013.776>. Acesso em: 15 out. 2022

KAPLAN, E. L.; MEIER, Paul. Nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of the American Statistical Association**, [s.l.], v. 53, n. 282, p. 457-481, June 1958. DOI 10.1080/01621459.1958.10501452. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/01621459.1958.10501452>. Acesso em: 06 set. 2022.

KAPPIKERI, Vijay Kumar Shankarrao; KRIPLANI, Akshay Mahesh. Bilateral synchronous carcinoma breast - a rare case presentation. **SpringerPlus**. [s.l.], v. 4, n. 193, p. 1-5, Apr. 22, 2015. DOI 10.1186/s40064-015-0953-3. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40064-015-0953-3>. Acesso em: 06 set. 2022.

KARIM, Muhammad Osman, *et al.* "Triple Assessment of Breast Lump: Should We Perform Core Biopsy for Every Patient?" **Cureus**, março de 2020. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.7759/cureus.7479>. Acesso em: 06 set. 2022.

KATAOKA, Akemi; TOKUNAGA, Eriko; MASUDA, Norikazu; SHIEN, Tadahiko; KAWABATA, Kimiko; MIYASHITA, Mika. Clinicopathological features of young patients. **Breast Cancer**, [S.L.], v. 21, n. 6, p. 643-650, 16 abr. 2014. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s12282-013-0466-2>. Acesso em: 06 set. 2022.

KATAOKA, Akemi *et al.* Young adult breast cancer patients have a poor prognosis independent of prognostic clinicopathological factors: a study from the Japanese Breast Cancer Registry. **Breast Cancer Research and Treatment**, [s.l.], v. 160, n. 1, p.163-172, Nov. 2016. DOI 10.1007/s10549-016-3984-8. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-016-3984-8>. Acesso em: 06 set. 2022

KIM, Min Chong *et al.* Characteristics and Prognosis of Estrogen Receptor Low-Positive Breast Cancer. **Journal Of Breast Cancer**, [S.L.], v. 25, n. 4, p. 318, 2022. DOI 10.4048/jbc.2022.25.e31. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4048/jbc.2022.25.e31>. Acesso em: 06 out. 2022.

KIM, Ryungsa *et al.* Tumor-Driven Evolution of Immunosuppressive Networks during Malignant Progression. **Cancer Research**, [S.L.], v. 66, n. 11, p. 5527-5536, 1 jun. 2006. DOI 10.1158/0008-5472.can-05-4128. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-05-4128>. Acesso em: 30 out. 2022.

KIM, R *et al.* Functional roles of immature dendritic cells in impaired immunity of solid tumour and their targeted strategies for provoking tumour immunity. **Clinical And Experimental Immunology**, [S.L.], v. 146, n. 2, p. 189-196, 27 set. 2006. DOI 10.1111/j.1365-2249.2006.03215.x. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03215.x>. Acesso em: 22 out. 2022.

KIM, Ryungsa *et al.* Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. **Immunology**, [s.l.], v. 121, n. 1, p.1-14, May 2007. DOI 10.1111/j.1365-2567.2007.02587.x. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2567.2007.02587.x>. Acesso em: 06 set. 2022.

KONDO, Yoichiro. Macrophages containing Langerhans cell granules in normal lymph nodes of the rabbit. **Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie**, [s.l.], v. 98, n. 4, p. 506-511, Dec. 1969. DOI 10.1007/bf00347028. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/bf00347028>. Acesso em: 06 set. 2022.

KONONEN, J. *et al.* Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. **Nature Medicine**, [s.l.], v. 4, n. 7, p. 844-847, July 1998. DOI 10.1038/nm0798-844. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nm0798-844>. Acesso em: 06 set. 2022.

KURIAN, Allison W.; CARLSON, Robert W.. Principles of Breast Cancer Therapy. **Breast Cancer Epidemiology**, [S.L.], p. 371-388, 3 ago. 2009. DOI 10.1007/978-1-4419-0685-4\_17. Acesso em: [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4419-0685-4\\_17](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4419-0685-4_17). Acesso em: 08 mar. 2022.

KVEDARAITE *et al.* "Human Dendritic Cells in Cancer". **Science Immunology**, vol. 7, no 70, abril de 2022, p.1-5. DOI 10.1126/sciimmunol.abm9409. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abm9409>. Acesso em: 13 out. 2022.

LANDSKRON, Glauben *et al.* Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. **Journal of Immunology Research**, [s.l.], v. 2014, p. 1-19, May 13, 2014. DOI 10.1155/2014/149185. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/149185>. Acesso em: 06 set. 2022.

LANGERHANS, Paul. Ueber die nerven der menschlichen haut. **Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische medicin**, [s.l.], v. 44, n. 2-3, p. 325-337, Sep. 1868. DOI 10.1007/bf01959006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/bf01959006>. Acesso em: 06 set. 2022.

LEE, Andrew H. S.; ELLIS, Ian O. The Nottingham Prognostic Index for Invasive Carcinoma of the Breast. **Pathology & Oncology Research**, [S.L.], v. 14, n. 2, p. 113-115, jun. 2008. DOI 10.1007/s12253-008-9067-3. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s12253-008-9067-3>. Acesso em: 04 out. 2022.

LEE, Heejae; LEE, Hee Jin; SONG, In Hye; BANG, Won Seon; HEO, Sun-Hee; GONG, Gyungyub; PARK, In Ah. CD11c-Positive Dendritic Cells in Triple-negative Breast Cancer. **In Vivo**, [S.L.], v. 32, n. 6, p. 1561-1569, 2018. Anticancer Research USA Inc.. <http://dx.doi.org/10.21873/invivo.11415>.

LEE, Minna K.; VARZI, Leo A.; CHUNG, Debra U.; CAO, Minh-An; GORNBEIN, Jeffrey; APPLE, Sophia K.; CHANG, Helena R. The Effect of Young Age in Hormone Receptor Positive Breast Cancer. **Biomed Research International**, [S.L.], v. 2015, p. 1-6, 2015. DOI 10.1155/2015/325715. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/325715>. Acesso em: 17 out. 2022.

LEHMAN, Constance D.; LEE, Christoph I.; LOVING, Vileta A.; PORTILLO, Michael S.; PEACOCK, Sue; DEMARTINI, Wendy B.. Accuracy and Value of Breast Ultrasound for Primary Imaging Evaluation of Symptomatic Women 30-39 Years of Age. **American Journal Of Roentgenology**, [S.L.], v. 199, n. 5, p. 1169-1177, nov. 2012. DOI 10.2214/ajr.12.8842. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2214/ajr.12.8842>. Acesso em: 30 set. 2022.

LESPAGNARD L. *et al.* Tumor-infiltrating dendritic cells in adenocarcinomas of the breast: a study of 143 neoplasms with a correlation to usual prognostic factors and to clinical outcome. **International Journal of Cancer**, [s.l.], v. 84, n. 3, p. 309–314, June 21, 1999. DOI 10.1002/(sici)1097-0215(19990621)84:3%3C309::aid-ijc19%3E3.0.co;2-3. Disponível em: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0215\(19990621\)84:3%3C309::aid-ijc19%3E3.0.co;2-3](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0215(19990621)84:3%3C309::aid-ijc19%3E3.0.co;2-3). Acesso em: 06 set. 2022.

LIAN, Weibin *et al.* The impact of young age for prognosis by subtype in women with early breast cancer. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 7, n. 1, p. 1-8, Sep. 14, 2017. DOI 10.1038/s41598-017-10414-x. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-10414-x>. Acesso em: 06 set. 2022.

LI, C I; URIBE, D J; DALING, J R. Clinical characteristics of different histologic types of breast cancer. **British Journal Of Cancer**, [S.L.], v. 93, n. 9, p. 1046-1052, 20 set. 2005. DOI 10.1038/sj.bjc.6602787. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjc.6602787>. Acesso em: 06 out. 2022.

LIN, Albert, *et al.* “Dendritic Cells Integrate Signals from the Tumor Microenvironment to Modulate Immunity and Tumor Growth”. **Immunology Letters**, vol. 127, no 2, janeiro de 2010, p. 77–84. DOI. 10.1016/j.imlet.2009.09.003. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2009.09.003>. Acesso em: 23 out. 2022.

LIU, Shuzhen *et al.* O. Progesterone receptor is a significant factor associated with clinical outcomes and effect of adjuvant tamoxifen therapy in breast cancer patients. **Breast Cancer Research And Treatment**, [S.L.], v. 119, n. 1, p. 53-61, 10 fev. 2009.. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-009-0318-0>. Acesso em: 06 out. 2022.

LIU, Zheng-Gang; JIAO, Delong. Necroptosis, tumor necrosis and tumorigenesis. **Cell Stress**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 1-8, 13 jan. 2020. DOI 10.15698/cst2020.01.208. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.15698/cst2020.01.208>. Acesso em: 20 out. 2022.

LIEDTKE, Cornelia *et al.* The prognostic impact of age in different molecular

subtypes of breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, [s.l.], v. 152, n. 3, p. 667-673, July 21, 2015. DOI 10.1007/s10549-015-3491-3. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-015-3491-3>. Acesso em: 06 set. 2022.

LIMA, Sarah M *et al.* Global breast cancer incidence and mortality trends by region, age-groups, and fertility patterns. **Eclinicalmedicine**, [S.L.], v. 38, p. 100985, ago. 2021. DOI 10.1016/j.eclinm.2021.100985. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.100985>. Acesso em: 04 out. 2022.

LÓPEZ, Carlos *et al.* Differences in the Immune Response of the Nonmetastatic Axillary Lymph Nodes between Triple-Negative and Luminal A Breast Cancer Surrogate Subtypes. **The American Journal Of Pathology**, [S.L.], v. 191, n. 3, p. 545-554, mar. 2021. DOI 10.1016/j.ajpath.2020.11.008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajpath.2020.11.008>. Acesso em: 20 out. 2022.

LOWENFELD, Lea *et al.* "Addition of Anti-Estrogen Therapy to Anti-HER2 Dendritic Cell Vaccination Improves Regional Nodal Immune Response and Pathologic Complete Response Rate in Patients with ER pos /HER2 pos Early Breast Cancer". **Oncolimmunology**, v. 6, n. 9, setembro de 2017, p. e1207032. DOI 10.1080/2162402X.2016.1207032. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/2162402X.2016.1207032>. Acesso em: 09 nov 2022

LUNG, T.L *et al.* Unimpaired dendritic cells can be derived from monocytes in old age and can mobilize residual function in senescent T cells. **Vaccine**, [S.L.], v. 18, n. 16, p. 1606-1612, fev. 2000. DOI 10.1016/s0264-410x(99)00494-6. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s0264-410x\(99\)00494-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0264-410x(99)00494-6). Acesso em: 04 nov. 2022.

MOKARIAN, Fariborz *et al.* The performance of the Nottingham Prognosis Index and the adjuvant online decision making tool for prognosis in early-stage breast cancer patients. **International Journal Of Preventive Medicine**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 93, 2015. DOI 10.4103/2008-7802.166503. Disponível em <http://dx.doi.org/10.4103/2008-7802.166503>. Acesso em: 04 out. 2022.

MURPHY, Brittany L.; DAY, Courtney N.; HOSKIN, Tanya L.; HABERMANN, Elizabeth B.; BOUGHEY, Judy C. Adolescents and Young Adults with Breast Cancer have More Aggressive Disease and Treatment Than Patients in Their Forties. **Annals Of Surgical Oncology**, [S.L.], v. 26, n. 12, p. 3920-3930, 2 ago. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1245/s10434-019-07653-9>.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH; National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. **Cancer stat facts: female breast cancer**. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html>. Acesso em: 04 out. 2022.

NARANG, POOJA, et al. "The Neoepitope Landscape of Breast Cancer: Implications for Immunotherapy". **BMC Cancer**, v. 19, n. 1, dezembro de 2019, p. 200. DOI 10.1186/s12885-019-5402-1 Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5402-1>. Acesso em: 21 out. 2022.

NIELSEN, Torsten O. *et al.* Immunohistochemical and Clinical Characterization of the Basal-Like Subtype of Invasive Breast Carcinoma. **Clinical Cancer Research**, [S.L.], v. 10, n. 16, p. 5367-5374, 15 ago. 2004. DOI 10.1158/1078-0432.ccr-04-0220. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-04-0220>. Acesso em: 02 out. 2022.

NIXON, A J. *et al.* Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 12, n. 5, p. 888-894, maio 1994. DOI 10.1200/jco.1994.12.5.888. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.1994.12.5.888>. Acesso em: 17 out. 2022.

MAIORANO, Eugênio *et al.* Prognostic and predictive impact of central necrosis and fibrosis in early breast cancer: results from two international breast cancer study group randomized trials of chemoendocrine adjuvant therapy. **Breast Cancer Research And Treatment**, [S.L.], v. 121, n. 1, p. 211-218, 12 mar. 2009. DOI 10.1007/s10549-009-0360-y. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-009-0360-y>. Acesso em 17 out. 2022.

MILDNER, Alexander; JUNG, Steffen. Development and Function of Dendritic Cell Subsets. **Immunity**, [S.L.], v. 40, n. 5, p. 642-656, maio 2014. DOI 10.1016/j.immuni.2014.04.016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2014.04.016>. Acesso em: 07 out. 2022.

MITTAL, Deepak *et al.* New insights into cancer immunoediting and its three component phases - - elimination, equilibrium and escape. **Current Opinion in Immunology**, [s.l.], v. 27, p. 16-25, Apr. 2014. DOI 10.1016/j.coi.2014.01.004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.coi.2014.01.004>. Acesso em: 06 set. 2022.

OLÁH Imre *et al.* A special type of cell in the medulla of the rat thymus. **Acta Biologica Academiae Scientiarum Hungaricae**. [s.l.], v.19, n.1, p. 97-113, Feb. 1968. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/17493663\\_A\\_special\\_type\\_of\\_cell\\_in\\_the\\_medulla\\_of\\_the\\_rat\\_thymus](https://www.researchgate.net/publication/17493663_A_special_type_of_cell_in_the_medulla_of_the_rat_thymus). Acesso em: 06 set. 2022.

OLTRA, Sara S. *et al.* Acceleration in the DNA methylation age in breast cancer tumours from very young women. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 9, n. 1, p. 1-12, Oct. 18, 2019. DOI 10.1038/s41598-019-51457-6. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-51457-6>. Acesso em: 06 set. 2022.

ONO, Makiko *et al.* Tumor-infiltrating lymphocytes are correlated with response to neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer. **Breast Cancer Research And Treatment**, [S.L.], v. 132, n. 3, p. 793-805, 12 maio 2011. DOI 10.1007/s10549-011-1554-7. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-011-1554-7>. Acesso em: 22 out. 2022.

ORLANDINI, Leonardo Fleury *et al.* "Epidemiological Analyses Reveal a High Incidence of Breast Cancer in Young Women in Brazil". **JCO Global Oncology**, no 7, dezembro de 2021, p. 81–88. DOI 10.1200/GO.20.00440. Disponível em: <https://doi.org/10.1200/GO.20.00440>. Acesso em: 07 nov. 2022.

PANDIT, Prakash *et al.* Prevalence of Molecular Subtypes of Breast Cancer: a single institutional experience of 2062 patients. **European Journal Of Breast Health**,

[S.L.], v. 16, n. 1, p. 39-43, 11 mar. 2020. DOI 10.5152/ejbh.2019.4997. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5152/ejbh.2019.4997>. Acesso em: 18 out. 2022.

PARTRIDGE, Ann H. *et al.* Subtype-Dependent Relationship Between Young Age at Diagnosis and Breast Cancer Survival. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 34, n. 27, p. 3308-3314, 20 set. 2016. DOI 10.1200/jco.2015.65.8013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2015.65.8013>. Acesso em: 6 jan. 2022.

PEROU, Charles M. *et al.* Molecular portraits of human breast tumours. **Nature**, [s./], v. 406, n. 6797, p. 747-752, Aug. 17, 2000. DOI 10.1038/35021093. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/35021093>. Acesso em: 02 out. 2022.

PILKINGTON, Suzanne M. *et al.* Lower levels of interleukin-1 $\beta$  gene expression are associated with impaired Langerhans' cell migration in aged human skin. **Immunology**, [S.L.], v. 153, n. 1, p. 60-70, 31 ago. 2017. DOI 10.1111/imm.12810. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/imm.12810>. Acesso em: 22 out 2022.

POURZAND, Ali *et al.* Hormone Receptor Status in Breast Cancer and its Relation to Age and Other Prognostic Factors. **Breast Cancer: Basic and Clinical Research**, [S.L.], v. 5, p. 87-92, jan. 2011. DOI 10.4137/bcbcr.s7199. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4137/bcbcr.s7199>. Acesso em: 13 out 2022

PRUNIERAS, M. Special review article: interactions between keratinocytes and dendritic cells. **Journal of Investigative Dermatology**, [s./], v. 52, n. 1, p. 1-17, Jan. 1969. DOI 10.1038/jid.1969.1. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/jid.1969.1>. Acesso em: 06 set. 2022.

RADECKA, Barbara; LITWINIUK, Maria. Breast cancer in young women. **Ginekologia Polska**, [S.L.], v. 87, n. 9, p. 659-663, 30 set. 2016. DOI 10.5603/gp.2016.0062. <http://dx.doi.org/10.5603/gp.2016.0062>. Acesso em: 06 set. 2022.

RANVIER, L. **Traite technique d'histologie**. Paris: Librairie F. Savy, 1875.

RAPITI, Elisabetta; FIORETTA, Gerald; VERKOOIJEN, Helena M.; VLASTOS, Georges; SCHÄFER, Peter; SAPPINO, André-Pascal; KURTZ, John; NEYROUD-CASPAR, Isabelle; BOUCHARDY, Christine. Survival of young and older breast cancer patients in Geneva from 1990 to 2001. **European Journal Of Cancer**, [S.L.], v. 41, n. 10, p. 1446-1452, jul. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2005.02.029>. Acesso em: 06 set. 2022.

RICHARDS, Colin H. *et al.* The prognostic value of histological tumor necrosis in solid organ malignant disease: a systematic review. **Future Oncology**, [S.L.], v. 7, n. 10, p. 1223-1235, out. 2011. DOI 10.2217/fon.11.99. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2217/fon.11.99>. Acesso em: 3 out. 2022.

RUFFELL, Brian *et al.* Leukocyte composition of human breast cancer. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)**, [s./], v. 109, n. 8, p. 2796-2801, Aug. 08, 2011. DOI 10.1073/pnas.1104303108. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1104303108>. Acesso em: 06 set. 2022.

RYU, Jai Min *et al.*. Only estrogen receptor “positive” is not enough to predict the prognosis of breast cancer. **Breast Cancer Research And Treatment**, [S.L.], v. 172, n. 3, p. 627-636, 14 set. 2018. DOI 10.1007/s10549-018-4948-y. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-018-4948-y>. Acesso em: 06 out. 2022.

RUMMEL, Seth. Tumour location within the breast: does tumour site have prognostic ability? **Ecanermedicalscience**, [S.L.], v. 9, p. 1-10, 13 jul. 2015. DOI 10.3332/ecancer.2015.552. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3332/ecancer.2015.552>. Acesso em: 05 out. 2022.

RUMMEL, Seth K. *et al.* Contribution of germline mutations in cancer predisposition genes to tumor etiology in young women diagnosed with invasive breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, [s.l.], v. 164, n. 3, p. 593-601, May 13, 2017. DOI 10.1007/s10549-017-4291-8. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-017-4291-8>. Acesso em: 06 set. 2022.

SAADATMAND, Sepideh *et al.* Influence of tumour stage at breast cancer detection on survival in modern times: population based study in 173 797 patients. **Bmj**, [S.L.], p. 1-9, 6 out. 2015. DOI 10.1136/bmj.h4901. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.h4901>. Acesso em: 31 out. 2022.

SAGHIR, Nagi s El *et al.* Effects of young age at presentation on survival in breast cancer. **Bmc Cancer**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 1-8, 20 jul. 2006. DOI 10.1186/1471-2407-6-194. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2407-6-194>. Acesso em 16 out. 2022.

SALEMME, Vincenzo *et al.* The Crosstalk Between Tumor Cells and the Immune Microenvironment in Breast Cancer: implications for immunotherapy. **Frontiers In Oncology**, [S.L.], v. 11, p. 1-20, 11 mar. 2021. DOI 10.3389/fonc.2021.61. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2021.610303>. Acesso em: 01 nov. 2022.

SANTISTEBAN, Marta *et al.* Final results regarding the addition of dendritic cell vaccines to neoadjuvant chemotherapy in early HER2-negative breast cancer patients: clinical and translational analysis. **Therapeutic Advances In Medical Oncology**, [S.L.], v. 13, p. 175883592110646, jan. 2021. DOI 10.1177/17588359211064653. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/17588359211064653>. Acesso em 09 nov 2022.

SATO, Katsuaki; FUJITA, Shigeharu. Dendritic cells-nature and classification. **Allergology International**, [s.l.], v. 56, n. 3, p. 183-191, Sep. 2007. DOI 10.2332/allergolint.r-06-139. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2332/allergolint.r-06-139>. Acesso em: 06 set. 2022.

SCHENA, Mark, *et al.* “Quantitative Monitoring of Gene Expression Patterns with a Complementary DNA Microarray”. **Science**, v. 270, no 5235, outubro de 1995, p. 467–70. DOI 10.1126/science.270.5235.467. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.270.5235.467>. Acesso em: 02 out. 2022.

SCHULTZE, Joachim L.; ASCHENBRENNER, Anna C.. Systems immunology allows a new view on human dendritic cells. **Seminars In Cell & Developmental Biology**, [S.L.], v. 86, p. 15-23, fev. 2019. DOI 10.1016/j.semcdb.2018.02.017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcdb.2018.02.017>. Acesso em: 07 out 2022.



SCHULER, G.; STEINMAN, R. M. Murine epidermal Langerhans cells mature into potent immunostimulatory dendritic cells in vitro. **Journal of Experimental Medicine**, [s.l.], v. 161, n. 3, p. 526-546, Mar. 01, 1985. DOI 10.1084/jem.161.3.526. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1084/jem.161.3.526>. Acesso em: 06 set. 2022.

SEILLET, Cyril; LAFFONT, Sophie; TRÉMOLLIÈRES, Florence; ROUQUIÉ, Nelly; RIBOT, Claude; ARNAL, Jean-François; DOUIN-ECHINARD, Victorine; GOURDY, Pierre; GUÉRY, Jean-Charles. The TLR-mediated response of plasmacytoid dendritic cells is positively regulated by estradiol in vivo through cell-intrinsic estrogen receptor  $\alpha$  signaling. **Blood**, [S.L.], v. 119, n. 2, p. 454-464, 12 jan. 2012. American Society of Hematology. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2011-08-371831>. Acesso em: 06 set. 2022.

SEMIGLAZOV, Vladimir *et al.* Immunology and immunotherapy in breast cancer. **Cancer Biology & Medicine**, [S.L.], v. 19, n. 5, p. 609-618, 9 jun. 2022. DOI 10.20892/j.issn.2095-3941.2021.0597. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2021.0597>. Acesso em: 06 out. 2022.

SHAH, Aamera; HAIDER, Ghulam; ABRO, Nargis; BHUTTO, Sorath; BAQAI, Tooba I; AKHTAR, Saba; ABBAS, Kiran. Correlation Between Age and Hormone Receptor Status in Women With Breast Cancer. **Cureus**, [S.L.], p. 1-8, 26 jan. 2022. Cureus, Inc.. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.7759/cureus.21652>. Acesso em: 06 out. 2022.

SHAHVERDI, Mahshid *et al.* The modulatory role of dendritic cell-T cell cross-talk in breast cancer: challenges and prospects. **Advances In Medical Sciences**, [S.L.], v. 67, n. 2, p. 353-363, set. 2022. DOI 10.1016/j.advms.2022.09.001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.advms.2022.09.001>. Acesso em: 06 out. 2022.

SHIVERS, Vickie L.; HARLAN, Linda C.; STEVENS, Jennifer L. Racial/ethnic variation in clinical presentation, treatment, and survival among breast cancer patients under age 35. **Cancer**, [s.l.], v. 97, n. 1, p.134-147, Jan. 01, 2003. DOI 10.1002/cncr.11051. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.11051>. Acesso em: 06 set. 2022.

SHIEN, Tadahiko; IWATA, Hiroji. Significance of primary lesion resection in Stage IV breast cancer. **Japanese Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 47, n. 5, p. 381-384, 23 fev. 2017. DOI 10.1093/jjco/hyx027. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1093/jjco/hyx027>. Acesso em: 13 out. 2022.

SHODELL, M.; SIEGAL, F. P.. Circulating, Interferon-Producing Plasmacytoid Dendritic Cells Decline During Human Ageing. **Scandinavian Journal Of Immunology**, [S.L.], v. 56, n. 5, p. 518-521, 31 out. 2002. DOI 10.1046/j.1365-3083.2002.01148.x. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3083.2002.01148.x>. Acesso em: 25 out. 2022.

SHOEMAKER, Meredith L. *et al.* Differences in breast cancer incidence among young women aged 20-49 years by stage and tumor characteristics, age, race, and ethnicity, 2004-2013. **Breast Cancer Research and Treatment**, [s.l.], v. 169, n. 3, p.

595-606, Feb. 14, 2018. DOI 10.1007/s10549-018-4699-9. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-018-4699-9>. Acesso em: 25 out. 2022.

SHORTMAN, Ken; LIU, Yong-Jun. Mouse and human dendritic cell subtypes. **Nature Reviews Immunology**, [s.l.], v. 2, n. 3, p. 151-161, Mar. 2002. DOI 10.1038/nri746. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nri746>. Acesso em: 06 set. 2022.

SHURIN, Michael R. *et al.* Aging and the dendritic cell system: implications for cancer. **Critical Reviews In Oncology/Hematology**, [S.L.], v. 64, n. 2, p. 90-105, nov. 2007. DOI 10.1016/j.critrevonc.2007.03.002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2007.03.002>. Acesso em: 28 out. 2022.

SHURIN, Michael R.; LOTZE, Michael T. Dendritic cells in cancer: emergence of the discipline. In.: SHURIN, Michael R.; SATER, Russell D. (ed.). **Dendritic Cells in Cancer**. [S.l.]: Springer, 2009. p. 11-30, DOI 10.1007/978-0-387-88611-4\_2. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-88611-4\\_2](http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-88611-4_2). Acesso em: 06 set. 2022.

SISIRAK, Vanja *et al.* Impaired IFN- $\alpha$  production by plasmacytoid dendritic cells favors regulatory T-cell expansion that may contribute to breast cancer progression. **Cancer Research**, [s.l.], v. 72, n. 20, p. 5188-5197, Oct. 15, 2012. DOI 10.1158/0008-5472.can-11-3468. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-11-3468>. Acesso em: 06 set. 2022.

SOERJOMATARAM, Isabelle *et al.* An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, [s.l.], v. 107, n. 3, p. 309-330, Mar. 22, 2007. DOI 10.1007/s10549-007-9556-1. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-007-9556-1>. Acesso em: 06 set. 2022.

SOLANO-GÁLVEZ, Sandra Georgina *et al.* Human dendritic cells: ontogeny and their subsets in health and disease. **Medical Sciences**, [s.l.], v. 6, n. 4, p. 1-20, Oct. 08, 2018. DOI 10.3390/medsci6040088. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/medsci6040088>. Acesso em: 06 set. 2022.

SOPIK, Victoria; SUN, Ping; NAROD, Steven A. The prognostic effect of estrogen receptor status differs for younger versus older breast cancer patients. **Breast Cancer Research And Treatment**, [S.L.], v. 165, n. 2, p. 391-402, 10 jun. 2017. DOI 10.1007/s10549-017-4333-2. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-017-4333-2>. Acesso em: 17 out 2022.

SØRLIE, Therese *et al.* Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)**, [s.l.], v. 98, n. 19, p. 10869-10874, Sep. 11, 2001. DOI 10.1073/pnas.191367098. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.191367098>. Acesso em: 06 set. 2022.

SØRLIE, Therese *et al.* Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)**, [s.l.], v. 100, n. 14, p. 8418-8423, July 08, 2003. DOI 10.1073/pnas.0932692100. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.0932692100>. Acesso em: 06 set. 2022.

SØRLIE, Therese. “Molecular Portraits of Breast Cancer: Tumour Subtypes as Distinct Disease Entities”. **European Journal of Cancer**, v. 40, n. 18, dezembro de 2004, p. 2667–75. DOI 10.1016/j.ejca.2004.08.021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2004.08.021>. Acesso em: 02 out. 2022.

ȘTEFAN, Alina Elena; GOLOGAN, Daniela; LEAVITT, Matthew O.; MUȘAT, Sorin; PLEȘEA, Iancu Emil; STAN, Liane Gloria Raluca; PLEȘEA, Răzvan Mihail; MILITARU, Manuella. Tissue microarrays – brief history, techniques and clinical future. **Romanian Journal Of Morphology And Embryology**, [S.L.], v. 61, n. 4, p. 1077-1083, 25 jun. 2021. Societatea Romana de Morfologie. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.47162/rjme.61.4.10>. Acesso em: 29 out. 2022.

STEGER, M. *et al.* Morphologically and functionally intact dendritic cells can be derived from the peripheral blood of aged individuals. **Clinical And Experimental Immunology**, [S.L.], v. 105, n. 3, p. 544-550, set. 1996. DOI 10.1046/j.1365-2249.1996.d01-790.x. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2249.1996.d01-790.x>. Acesso em: 29 out. 2022.

STEINMAN, R. M.; COHN, Z. A. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. **Journal of Experimental Medicine**, [s.l.], v.137, n. 5, p. 1142-1162, May 01, 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.1084/jem.137.5.114>. Acesso em: 06 set. 2022.

SUN, HENGWEN, *et al.* “Comparisons of Metastatic Patterns, Survival Outcomes and Tumor Immune Microenvironment Between Young and Non-Young Breast Cancer Patients”. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 10, julho de 2022, p. 923371. DOI.org (Crossref). Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.923371>. Acesso em: 06 set. 2022.

SZPOR, Joanna; STREB, Joanna; GLAJCAR, Anna; FRĄCZEK, Paulina; WINIARSKA, Aleksandra; TYRAK, Katarzyna E.; BASTA, Paweł; OKOŃ, Krzysztof; JACH, Robert; HODOROWICZ-ZANIEWSKA, Diana. Dendritic Cells Are Associated with Prognosis and Survival in Breast Cancer. **Diagnostics**, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 702, 14 abr. 2021. MDPI AG. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/diagnostics11040702>. Acesso em: 06 set. 2022.

TAKAYUKI, Ueno. “Surgical Management of Metastatic Breast Cancer: A Mini Review”. **Frontiers in Oncology**, v. 12, maio de 2022, p. 910544. DOI 10.3389/fonc.2022.910544. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.910544>. Acesso em: 13 set. 2022

TAN, Puay Hoon *et al.* The 2019 World Health Organization classification of tumours of the breast. **Histopathology**, [s.l.], v. 77, n. 2, p. 181-185, Aug. 2020. DOI 10.1111/his.14091. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/his.14091>. Acesso em: 06 set. 2022.

TARNOWSKI, William M.; HASHIMOTO, Ken. Langerhans' cell granules in histiocytosis X: the epidermal Langerhans' cell as a macrophage. **Archives of Dermatology**, [s.l.], v. 96, n. 3, p. 298-304, Sep. 1967. DOI

10.1001/archderm.1967.01610030076014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1001/archderm.1967.01610030076014>. Acesso em: 06 set. 2022.

TCHOU, Julia *et al.* Safety and Efficacy of Intratumoral Injections of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cells in Metastatic Breast Cancer. **Cancer Immunology Research**, [S.L.], v. 5, n. 12, p. 1152-1161, 30 nov. 2017. DOI 10.1158/2326-6066.cir-17-0189. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1158/2326-6066.cir-17-0189>. Acesso em: 09 nov 2022.

TESAR, Bethany M. *et al.* Nurine myeloid dendritic cell-dependent toll-like receptor immunity is preserved with aging. **Aging Cell**, [S.L.], v. 5, n. 6, p. 473-486, dez. 2006. DOI 10.1111/j.1474-9726.2006.00245.x. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1474-9726.2006.00245.x>. Acesso em: 29 out. 2022.

TREILLEUX, Isabelle *et al.* Dendritic cell infiltration and prognosis of early stage breast cancer. **Clinical Cancer Research**, [s.l.], v. 10, n. 22, p. 7466-7474, Nov. 15, 2004. DOI 10.1158/1078-0432.ccr-04-0684. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-04-0684>. Acesso em: 06 set. 2022.

TSAI, Hsiu-Pei *et al.* Differential microRNA expression in breast cancer with different onset age. **PLoS One**, [s.l.], v. 13, n. 1, p. 1-19, Jan. 11, 2018. DOI 10.1371/journal.pone.0191195. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0191195>. Acesso em: 06 set. 2022.

UNLU, Ozan, *et al.* "Risk Factors and Histopathological Features of Breast Cancer among Women with Different Menopausal Status and Age at Diagnosis". **Journal of B.U.ON.**: Official Journal of the Balkan Union of Oncology, v. 22, n.1, fevereiro de 2017, p. 184–9. PMID 28365953. Disponível em: <https://www.jbuon.com/archive/22-1-184.pdf>. Acesso em: 14 out. 2022.

VAN SPLUNTER, Marloes *et al.* Plasmacytoid dendritic cell and myeloid dendritic cell function in ageing: a comparison between elderly and young adult women. **Plos One**, [S.L.], v. 14, n. 12, p. 1-19, 12 dez. 2019. DOI 10.1371/journal.pone.0225825. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0225825>. Acesso em: 29 out 2022.

VIALE, G. The current state of breast cancer classification. **Annals Of Oncology**, [S.L.], v. 23, p. 207-210, set. 2012. DOI 10.1093/annonc/mds326. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mds326>. Acesso em: 6 out. 2022.

WAKS, Adrienne G.; WINER, Eric P. Breast Cancer Treatment. **Jama**, [S.L.], v. 321, n. 3, p. 288, 22 jan. 2019. DOI 10.1001/jama.2018.19323. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2018.19323>. Acesso em: 04 out. 2022.

Wang B, Wang X, Zou Y. Association between hormone receptors and HER-2/neu is age-related. **Int J Clin Exp Pathol.**, v.8, n.7, p. 8472-9, 01 jul. 2015. PMID: 26339420; PMCID: PMC4555748.

Van't VEER, LAURA J. *et al.* "Gene Expression Profiling Predicts Clinical Outcome of Breast Cancer". **Nature**, vol. 415, no 6871, janeiro de 2002, p. 530–36. DOI. 10.1038/415530a. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/415530a>. Acesso em: 02 out. 2022.

WALKER, R. A. *et al.* Breast carcinomas occurring in young women (< 35 years) are different. **British Journal of Cancer**, [S.L.], v. 74, n. 11, p. 1796-1800, Dec. 1996. DOI 10.1038/bjc.1996.632. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/bjc.1996.632>. Acesso em: 06 set. 2022.

WEIGELT, Britta *et al.* Histological types of breast cancer: how special are they?. **Molecular Oncology**, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 192-208, 18 abr. 2010. DOI 10.1016/j.molonc.2010.04.004. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/j.molonc.2010.04.004>. Acesso em: 04 out. 2022.

WHO. **Classification of tumours of the breast**. 4th ed. Lyon (France): International Agency for Research in Cancer, 2012.

WHO Classification of Tumours Editorial Board. **Breast tumours**. 5<sup>th</sup> ed. Lyon (France): International Agency for Research in Cancer, 2019. v. 2. Disponível em: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/Breast-Tumours-2019>. Acesso em: 06 set. 2022.

WHO. **World Health Statistics 2020: Monitoring Health for the SDGs, Sustainable Development Goals**. World Health Organization, 2020. ISBN 978-92-4-000510-5. Disponível em <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332070>.

VODUC, K. *et al.* Breast Cancer Subtypes and the Risk of Local and Regional Relapse. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 28, n. 10, p. 1684-1691, 1 abr. 2010. DOI 10.1200/jco.2009.24.9284. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2009.24.9284>. Acesso em 18 set. 2022.

WOLFF, Antonio C. *et al.* American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. **Journal of Clinical Oncology: an American Society of Clinical Oncology Journal**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 118-145, Jan. 01, 2007. DOI 10.1200/jco.2006.09.2775. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2006.09.2775> Acesso em: 06 set. 2022.

WONG, Christine; GOLDSTEIN, Daniel R. Impact of aging on antigen presentation cell function of dendritic cells. **Current Opinion In Immunology**, [S.L.], v. 25, n. 4, p. 535-541, ago. 2013. DOI 10.1016/j.coi.2013.05.016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2013.05.016>. Acesso em: 22 out. 2022.

YAFFE, Martin J.; MAINPRIZE, James G.. Risk of Radiation-induced Breast Cancer from Mammographic Screening. **Radiology**, [S.L.], v. 258, n. 1, p. 98-105, jan. 2011. **Radiological Society of North America (RSNA)**. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1148/radiol.10100655>. Acesso em: 22 out. 2022.

YANG, Yaping *et al.* Comparison of the Characteristics and Prognosis Between Very Young Women and Older Women With Breast Cancer: a multi-institutional report from china. **Frontiers In Oncology**, [S.L.], v. 12, p. 1-12, 24 fev. 2022. DOI 10.3389/fonc.2022.783487. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2022.783487>. Acesso em: 16 out. 2022.

XIE, Yuetao et al. CAR T-cell therapy for triple-negative breast cancer: where we are. **Cancer Letters**, [S.L.], v. 491, p. 121-131, out. 2020. DOI 10.1016/j.canlet.2020.07.044. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2020.07.044>. Acesso em: 16 out. 2022

ZACCA, ESTEFANÍA R. *et al.* "Aging Impairs the Ability of Conventional Dendritic Cells to Cross-Prime CD8+ T Cells upon Stimulation with a TLR7 Ligand". **PLOS ONE**, organizado por Guillermo H. Giambartolomei, v. 10, n. 10, outubro de 2015, p. e0140672. DOI 10.1371/journal.pone.0140672. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140672>. Acesso em: 02 nov. 2022.

ZANNA, Mohammed Yusuf; et al. Review of Dendritic Cells, Their Role in Clinical Immunology, and Distribution in Various Animal Species. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 15, p. 8044, 28 jul. 2021. DOI 10.3390/ijms22158044. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22158044>. Acesso em: 07 out. 2022.

ZARDAVAS, Dimitrios; IRRTHUM, Alexandre; SWANTON, Charles; PICCART, Martine. Clinical management of breast cancer heterogeneity. **Nature Reviews Clinical Oncology**, [S.L.], v. 12, n. 7, p. 381-394, 21 abr. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrclinonc.2015.73>. Acesso em: 07 out. 2022.

ZAVALA, Walther David; CAVICCHIA, Juan Carlos. Deterioration of the Langerhans cell network of the human gingival epithelium with aging. **Archives Of Oral Biology**, [S.L.], v. 51, n. 12, p. 1150-1155, dez. 2006. DOI 10.1016/j.archoralbio.2006.06.008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2006.06.008>. Acesso em: 28 out. 2022.

ZEGARSKA, Barbara; *et al.* Changes of Langerhans cells during skin ageing. **Advances In Dermatology And Allergology**, [S.L.], v. 3, p. 260-267, 2017. DOI 10.5114/ada.2017.67849. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5114/ada.2017.67849>. Acesso em: 28 out. 2022.

ZHANG, X. *et al.* Young age is an independent adverse prognostic factor in early stage breast cancer: a population-based study. **Cancer Management And Research**, [S.L.], v. 10, p. 4005-4018, set. 2018. DOI <http://dx.doi.org/10.2147/cmar.s167363>. Acesso em: 27 set. 2022.

ZIMMER, Alexandra S. *et al.* Analysis of breast cancer in young women in the Department of Defense (DOD) database. **Breast Cancer Research and Treatment**, [s.l.], v. 168, n. 2, p. 501-511, Dec. 15, 2017. DOI 10.1007/s10549-017-4615-8. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-017-4615-8>. Acesso em: 27 set. 2022.

ZOUZOULAS, Dimitrios *et al.* Breast cancer in women younger than 35 years old. **Archives Of Gynecology And Obstetrics**, [S.L.], v. 302, n. 3, p. 721-730, 14 jul. 2020. DOI 10.1007/s00404-020-05695-z. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00404-020-05695-z>. Acesso em: 12 out. 2022.

**ANEXO A - PARECER DE APROVAÇÃO DO CEP**



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA  
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



OFÍCIO Nº 3453/2018  
CEP/MGV

RIBEIRÃO PRETO, 06 DE DEZEMBRO DE 2018

PREZADOS SENHORES,

O TRABALHO INTITULADO "O PERFIL FENOTÍPICO DAS CÉLULAS DENDRÍTICAS NO MICROAMBIENTE DO CÂNCER DE MAMA EM MULHERES JOVENS", FOI ANALISADO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA, EM SUA 482ª REUNIÃO ORDINÁRIA REALIZADA EM 03/12/2018 E ENQUADRADO NA CATEGORIA: APROVADO, BEM COMO A SOLICITAÇÃO DE DISPENSA DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO, DE ACORDO COM O PROCESSO HCRP Nº 13165/2018.

*ESTE COMITÊ SEGUE INTEGRALMENTE A RESOLUÇÃO Nº 466/12 CNS/MS.*

LEMBRAMOS QUE DEVEM SER APRESENTADOS A ESTE CEP, O RELATÓRIO PARCIAL E O RELATÓRIO FINAL DA PESQUISA.

ATENCIOSAMENTE.

**DRª. MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA**  
COORDENADORA DO COMITÊ DE ÉTICA EM  
PESQUISA DO HCRP E DA FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores  
**GUSTAVO MILHOMENS NOGUEIRA**  
**PROF.DR.ALFREDO RIBEIRO SILVA (ORIENTADOR)**  
Depto. de Patologia e Medicina Legal