

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**INVESTIGAÇÃO DE SORO E SALIVA POR ESPECTROSCOPIA ATR-FTIR E
AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS SISTÊMICOS COMO
ESTRATÉGIA DE ANÁLISE DO CÂNCER DE MAMA**

LARA DE ANDRADE MARQUES

UBERLÂNDIA

2025

LARA DE ANDRADE MARQUES

**INVESTIGAÇÃO DE SORO E SALIVA POR ESPECTROSCOPIA ATR-FTIR E
AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS SISTÊMICOS COMO
ESTRATÉGIA DE ANÁLISE DO CÂNCER DE MAMA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientadora: Profª Dra. Yara Cristina de Paiva Maia

Coorientadora: Dra. Alinne Tatiane Faria Silva

UBERLÂNDIA

2025

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

M357 Marques, Lara de Andrade, 1991-
2025 Investigação de soro e saliva por espectroscopia ATR-FTIR e
avaliação de biomarcadores inflamatórios sistêmicos como
estratégia de análise do câncer de mama [recurso eletrônico] /
Lara de Andrade Marques. - 2025.

Orientadora: Yara Cristina de Paiva Maia.

Coorientadora: Alinne Tatiane Faria Silva.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-
graduação em Ciências da Saúde.

Modo de acesso: Internet.

DOI <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2025.727>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Ciências médicas. I. Maia, Yara Cristina de Paiva, 1975-,
(Orient.). II. Silva, Alinne Tatiane Faria, 1992-, (Coorient.). III.
Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Ciências
da Saúde. IV. Título.

CDU: 61

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

FOLHA DE APROVAÇÃO

Lara de Andrade Marques

Investigação de soro e saliva por espectroscopia ATR-FTIR e avaliação de biomarcadores inflamatórios sistêmicos como estratégia de análise do câncer de mama.

Presidente da banca: Prof^a Dra. Yara Cristina de Paiva Maia

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde

Banca Examinadora

Titular: Bruna Maria Malagoli Rocha Santos

Instituição: Faculdade de Medicina de Marília - FAMEMA

Titular: Alfredo Mauricio Batista de Paula

Instituição: Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES

Titular: Rogério Agenor de Araújo

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Titular: Hebréia Oliveira Almeida Souza

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Suplente: Tafarel Andrade de Souza

Instituição: Johnson & Johnson

Suplente: Geórgia das Graças Pena

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia - UFU



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ciências da Saúde				
Defesa de:	Defesa de Tese Doutorado Nº 14/PPGCSAUDE				
Data:	16.12.2025	Hora de início:	14:00h	Hora de encerramento:	18:00h
Matrícula do Discente:	12113CSD012				
Nome do Discente:	Lara de Andrade Marques				
Título do Trabalho:	Investigação de soro e saliva por espectroscopia ATR-FTIR e avaliação de biomarcadores inflamatórios sistêmicos como estratégia de análise do câncer de mama.				
Área de concentração:	Ciências da Saúde				
Linha de pesquisa:	2: Diagnóstico, Tratamento e Prognóstico das Doenças e Agravos à Saúde				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Marcadores Nutricionais, Clínicos e Moleculares para o Diagnóstico, Prognóstico e Monitoramento Terapêutico em Oncologia				

Reuniu-se em sala virtual, pela plataforma ConferênciaWeb, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, composta pelos Profs. Drs. Bruna Maria Malagoli Rocha Santos (FAMEMA), Alfredo Maurício Batista de Paula (UNIMONTES), Rogério Agenor de Araújo (UFU), Hebréia Oliveira Almeida Souza (UFU) e Yara Cristina de Paiva Maia (UFU), orientadora da candidata.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dra. Yara Cristina de Paiva Maia, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença dos membros da banca, e concedeu a Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos,

conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Alfredo Maurício Batista de Paula, Usuário Externo**, em 16/12/2025, às 17:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Bruna Maria Malagoli Rocha Santos, Usuário Externo**, em 16/12/2025, às 17:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Yara Cristina de Paiva Maia, Professor(a) do Magistério Superior**, em 16/12/2025, às 17:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Hebreia Oliveira Almeida Souza, Professor(a) do Magistério Superior**, em 16/12/2025, às 17:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rogério Agenor de Araújo, Professor(a) do Magistério Superior**, em 16/12/2025, às 18:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6944175** e o código CRC **D8961AAC**.

DEDICATÓRIA

*Às pacientes que gentilmente participaram do
estudo.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

A Deus por me fortalecer e iluminar a cada dia da minha caminhada.

As agências de fomento pelo financiamento da pesquisa:

- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil (CNPq - Números das concessões: 409482/2021-8 e APQ-01339-21);
- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG - Número da concessão: APQ-01961-23 e Rede Mineira de Pesquisa Translacional em Imunobiológicos e Biofármacos no Câncer REMITRIBIC, RED-00031-21);
- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

A minha família, em especial ao meu esposo Jorge, minha mãe Ivani, meu pai Leônidas, minha irmã Laura e minha Tia Ivanete pela compreensão das minhas ausências e pelos incentivos nas horas difíceis.

A minha orientadora Prof^ª. Dra. Yara Cristina de Paiva Maia pela brilhante e dedicada orientação, pelo apoio, motivação, paciência, incentivos e compartilhamento do conhecimento.

A minha coorientadora Dra. Alinne Tatiane Faria Silva por todos os ensinamentos transmitidos, pela amizade e apoio nos momentos desafiadores.

As participantes da pesquisa que gentilmente se disponibilizaram a participar deste trabalho.

Aos maravilhosos pesquisadores, amigos do Grupo de Pesquisa BIONUT, que acreditam nos benefícios que os resultados desta pesquisa poderão trazer para a sociedade.

Aos profissionais do Laboratório de Nanobiotecnologia Prof^º Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho, que compartilharam conhecimentos e experiências de grande importância.

Aos funcionários do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia que colaboraram com a pesquisa, em especial aos funcionários do setor de Ginecologia e Obstetrícia Dr. Donizeti William Santos e Dra. Juliana Carvalho Penha Pereira e os funcionários do Hospital do Câncer em Uberlândia.

A excelente equipe do NuPPPeC (Núcleo de Projetos, Prevenção e Pesquisa em Câncer) do Grupo Luta pela Vida, pelo incentivo na realização do doutorado.

Ao Grupo Luta pela Vida por me proporcionar uma das experiências mais gratificantes da minha vida: ter sido enfermeira do Centro de Cuidados Paliativos Oncológicos.

Aos amigos que me apoiaram e ajudaram de diversas formas na realização dessa pesquisa.

E a todos que participaram e contribuíram de alguma maneira para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

*“Feliz aquele que transfere o que sabe e
aprende o que ensina”.*

Cora Coralina

RESUMO

Introdução: O câncer de mama é a neoplasia maligna mais incidente entre mulheres em todo o mundo e representa importante desafio de saúde pública, dada sua heterogeneidade molecular e impacto prognóstico. Diante disso, a busca por métodos não invasivos e custo-efetivos de diagnóstico e estratificação prognóstica torna-se essencial. **Objetivo:** Avaliar a aplicabilidade clínica de abordagens complementares para o diagnóstico e o prognóstico do câncer de mama, investigando a utilidade de perfis obtidos a partir de fluidos biológicos e biomarcadores inflamatórios sistêmicos e imunológicos, bem como suas correlações com características clínico-patológicas e com a sobrevida global de mulheres com câncer de mama, incluindo casos avançados. **Materiais e métodos:** No primeiro artigo, foi conduzido um estudo transversal envolvendo 73 participantes: 31 com câncer de mama, 18 com doença benigna da mama e 24 controles saudáveis. Amostras de soro e saliva foram analisadas por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com Refletância Total Atenuada (ATR-FTIR) e as diferenças espectrais entre os grupos foram avaliadas estatisticamente. No segundo artigo, foi realizado um estudo prospectivo com 33 pacientes com câncer de mama avançado acompanhadas em um programa de cuidados paliativos no Brasil entre 2021 e 2024. Os biomarcadores inflamatórios sistêmicos foram quantificados por hemograma e ensaio imunoenzimático (ELISA), sendo correlacionadas com sobrevida global por meio das análises de Kaplan-Meier e modelos de regressão de Cox. **Resultados:** No primeiro artigo, a análise espectral intragrupo entre câncer de mama e doença benigna da mama, os espectros de soro não apresentaram diferenças estatísticas. Na saliva, apenas o pico em 2930 cm^{-1} , associado a vibração de estiramentos C–H de lipídios, diferenciou câncer de mama de doença benigna da mama ($p = 0.0391$). Na comparação entre câncer de mama e controles saudáveis, o soro revelou diferença significativa em 1295 cm^{-1} (relacionado a citocina dos ácidos nucleicos). A saliva apresentou diferenças significativas em 1241 cm^{-1} (fosfato de ácidos nucleicos), 1541 cm^{-1} e 1644 cm^{-1} (amidas II e I de proteínas) e 2930 cm^{-1} (lipídios). Já na análise intergrupos, comparando câncer de mama, doença benigna da mama e controles saudáveis, mostrou-se que os componentes bioquímicos presentes no soro e na saliva, incluindo lipídios, ácidos nucleicos, proteínas e carboidratos, apresentaram padrões distintos de absorbância conforme o tipo de fluido biológico analisado. O pico 2930 cm^{-1} , relacionado a estiramentos C–H de lipídios, na saliva, foi capaz de diferenciar os três grupos estudados. No segundo artigo, os níveis elevados de interleucina-1BETA (IL-1BETA) ($> 76,03\text{ pg/mL}$) estiveram associados a pior sobrevida

global ($p = 0,018$), aumentando o risco de óbito em 8,84 vezes; e níveis elevados de interleucina-10 (IL-10) ($> 24,21$ pg/mL) também estiveram associados a pior sobrevida global ($p = 0,046$), aumentando o risco de óbito em 7,17 vezes. A amplitude de distribuição das hemácias (RDW), razão RDW/plaquetas (RPR), razão neutrófilos/linfócitos (N/L), razão linfócitos/monócitos (L/M) e a interleucina-6 (IL-6) não apresentaram associação significativa com o prognóstico. **Conclusões:** Os resultados demonstram que a espectroscopia ATR-FTIR é uma ferramenta promissora para a detecção de câncer de mama a partir de amostras de saliva, apresentando vantagens como rapidez, reprodutibilidade e caráter não invasivo. Paralelamente, as citocinas IL-1BETA e IL-10 emergem como biomarcadores prognósticos relevantes em doença avançada, refletindo a interação entre inflamação sistêmica e progressão tumoral. A integração dessas abordagens, diagnóstica e prognóstica, no manejo clínico do câncer de mama pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias personalizadas e acessíveis.

Palavras-chave: Câncer de mama; Espectroscopia FTIR; Saliva; Biomarcadores inflamatórios; Interleucinas; Prognóstico.

ABSTRACT

Introduction: Breast cancer is the most common malignant neoplasm among women worldwide and represents a significant public health challenge due to its molecular heterogeneity and prognostic impact. Therefore, the search for non-invasive and cost-effective methods of diagnosis and prognostic stratification becomes essential. **Objective:** To evaluate the clinical applicability of complementary approaches for the diagnosis and prognosis of breast cancer, investigating the usefulness of profiles obtained from biological fluids and systemic inflammatory and immunological biomarkers, as well as their correlations with clinicopathological characteristics and overall survival of women with breast cancer, including advanced cases. **Materials and methods:** In the first article, a cross-sectional study was conducted involving 73 participants: 31 with breast cancer, 18 with benign breast disease, and 24 healthy controls. Serum and saliva samples were analyzed by Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR), and spectral differences between groups were statistically evaluated. In the second article, a prospective study was conducted with 33 patients with advanced breast cancer followed in a palliative care program in Brazil between 2021 and 2024. Systemic inflammatory biomarkers were quantified by blood count and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and correlated with overall survival using Kaplan-Meier analyses and Cox regression models. **Results:** In the first article, the intragroup spectral analysis between breast cancer and benign breast disease, serum spectra showed no statistical differences. In saliva, only the peak at 2930 cm^{-1} , associated with C–H stretching vibration of lipids, differentiated breast cancer from benign breast disease ($p = 0.0391$). In the comparison between breast cancer and healthy controls, serum showed a significant difference at 1295 cm^{-1} (related to nucleic acid cytokines). Saliva showed significant differences at 1241 cm^{-1} (nucleic acid phosphate), 1541 cm^{-1} and 1644 cm^{-1} (protein amides II and I), and 2930 cm^{-1} (lipids). In the intergroup analysis, comparing breast cancer, benign breast disease, and healthy controls, it was shown that the biochemical components present in serum and saliva, including lipids, nucleic acids, proteins, and carbohydrates, presented distinct absorbance patterns according to the type of biological fluid analyzed. The 2930 cm^{-1} peak, related to C–H stretching of lipids in saliva, was able to differentiate the three groups studied. In the second article, the elevated levels of interleukin-1BETA (IL-1BETA) ($> 76.03\text{ pg/mL}$) were associated with worse overall survival ($p = 0.018$), increasing the risk of death by 8.84 times; and elevated levels of interleukin-10 (IL-10) ($> 24.21\text{ pg/mL}$) were also associated with worse overall

survival ($p = 0.046$), increasing the risk of death by 7.17 times. Red blood cell distribution width (RDW), RDW/platelet ratio (RPR), neutrophil/lymphocyte ratio (N/L), lymphocyte/monocyte ratio (L/M), and interleukin-6 (IL-6) did not show a significant association with prognosis.

Conclusions: The results demonstrate that ATR-FTIR spectroscopy is a promising tool for detecting breast cancer from saliva samples, offering advantages such as speed, reproducibility, and non-invasiveness. In parallel, the cytokines IL-1BETA and IL-10 emerge as relevant prognostic biomarkers in advanced disease, reflecting the interaction between systemic inflammation and tumor progression. The integration of these diagnostic and prognostic approaches in the clinical management of breast cancer can contribute to the development of personalized and accessible strategies.

Keywords: Breast cancer; FTIR spectroscopy; Saliva; Inflammatory biomarkers; Interleukins; Prognosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Figura 1. Anatomia da mama feminina.....	27
Figura 2. Etapas da carcinogênese.....	38
Figura 3. Sinais e sintomas do câncer de mama.....	42
Figura 4. Processo de formação do carcinoma ductal invasivo.....	44
Figura 5. Espectro infravermelho com destaque para a região de infravermelho médio (MIR).....	59
Figura 6. Exemplo de espectro de ATR-FTIR.....	62

ARTIGO 1

Figure 1. Breast cancer x benign breast disease (serum). Attenuated Total Reflection Spectroscopy - Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) analysis of serum spectra between patients with breast cancer and those with benign breast disease (n = 49). (a) Averages of the original serum infrared spectra for breast cancer and benign breast disease. (b) Average of serum second derivative spectra for breast cancer and benign breast disease.....	109
---	-----

Figure 2. Breast cancer x benign breast disease (saliva). Attenuated Total Reflection Spectroscopy - Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) analysis of saliva spectra between patients with breast cancer and those with benign breast disease (n = 49). (a) Averages of the original saliva infrared spectra for breast cancer and benign breast disease. (b) Average of saliva second derivative spectra for breast cancer and benign breast disease.....	110
---	-----

Figure 3. Breast cancer x healthy control (serum). Attenuated Total Reflection Spectroscopy - Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) analysis of serum spectra between the breast cancer group and the healthy control group (n = 55). (a) Averages of the original serum infrared spectra for the breast cancer and healthy control groups. (b) Average serum second derivative spectra for the breast cancer patients and healthy controls.....	111
--	-----

Figure 4. Breast cancer x healthy control (saliva). Attenuated Total Reflection Spectroscopy - Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) analysis of saliva spectra between the breast cancer group and the healthy control group (n = 55). (a) Averages of the original saliva infrared spectra for the breast cancer and healthy control groups. (b) Average of saliva second derivative spectra for breast cancer patients and healthy controls.....112

Figure 5. Serum x saliva. Comparison of serum and saliva fluids in samples from breast cancer patients (a), benign breast disease (b) and healthy controls (c).....113

ARTIGO 2

Figure 1. Kaplan-Meier survival curves associated with the relationship between the prognostic markers and overall survival of patients with advanced breast cancer. (a) RDW, (b) RPR, (c) N/L, (d) L/M, (e) IL-1BETA, (f) IL-6 and (g) IL-10.....126

LISTA DE TABELAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Tabela 1. Subtipos moleculares do câncer de mama.....	51
---	----

ARTIGO 1

Table 1. Demographic features of individuals with breast cancer, benign breast disease and control patients (n = 73).....	114
Table 2. Clinical and histopathological characteristics of women with breast cancer (n=31).....	115
Table 3. Comparison of the mean serum and saliva absorbances of patients with breast cancer, benign breast disease and healthy control groups.....	116

ARTIGO 2

Table 1. Clinicopathological characteristics of patients with advanced breast cancers (n = 33).....	123
Table 2. The relationship between clinicopathological factors and survival in patients with advanced breast cancer (n=33).....	125

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

RESUMO, INTRODUÇÃO E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

%	Por cento
<	Menor
>	Maior
≤	Igual ou menor
≥	Igual ou maior
°	Graus
AJCC	<i>American Joint Committee for Cancer</i>
APCs	Células apresentadoras de antígenos
ASCO/CAP	Sociedade Americana de Oncologia Clínica / Colégio Americano de Patologistas
ATR	Reflexão total atenuada
ATR-FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com refletância total atenuada
BI-RADS	<i>Breast Imaging-Reporting and Data System</i>
BRCA 1	Breast cancer 1
BRCA 2	Breast cancer 2
CDIS	Carcinoma ductal <i>in situ</i>
CISH	Hibridização <i>in situ</i> por cromatografia
CK14	Citoqueratina 14
CK5/6	Citoqueratinas 5 e 6
CLIS	Carcinoma Lobular <i>in situ</i>
cm	Centímetros
DBM	Doenças benignas da mama
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EGFR	Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico
EMT	Transição epitélio-mesênquima
ER	Receptor de estrogênio
ex.	Exemplo

FIR	Infravermelho distante
FISH	Hibridização <i>in situ</i> por fluorescência
FTIR	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier
g	Gramas
HDA	Hiperplasia Ductal Atípica
HER2	<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor 2</i> ou receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2
HLA	Hiperplasia Lobular Atípica
HPV	Papilomavírus Humano
IHQ	Imuno-histoquímica
IL-10	Interleucina-10
IL-1BETA	Interleucina-1 BETA
IL-6	Interleucina-6
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IV	Infravermelho
Ki-67	Índice proliferativo
L/M	Razão linfócitos/monócitos
MIR	Infravermelho médio
miRNAs	MicroRNAs
ml	Mililitros
mL/min	Mililitros por minuto
mm	Milímetros
MMPs	Metaloproteinases de matriz
N/L	Razão neutrófilos/linfócitos
NIR	Infravermelho próximo
NK	Células natural killers
nº	Número
OMS	Organização Mundial da Saúde
OS	<i>Overall Survival</i> - sobrevida global
PARP	Poly (ADP-ribose) polimerase
PD-L1	Ligante 1 da morte programada-1
pH	Potencial hidrogeniônico
PR	Receptor de progesterona

R	Radical orgânico
RB	Retinoblastoma
RDW	<i>Red Cell Distribution Width</i> - amplitude de distribuição das hemácias
RNA	Ácido ribonucleico
RPR	<i>Red cell Distribution Width-to-Platelet Ratio</i> - razão RDW/plaquetas
TCGA	<i>The Cancer Genome Atlas</i>
TNBC	Câncer de mama triplo negativo
TNM	Tumor primário [T], linfonodos regionais [N], metástases à distância [M]
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular
WHO	World Health Organization

ABSTRACT E ARTIGOS

%	Por cento
<	Menor
>	Maior
≤	Igual ou menor
≥	Igual ou maior
°	Graus
–	Negative
+	Positive
AJCC	<i>American Joint Committee for Cancer</i>
ATR	Reflexão total atenuada
ATR-FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com refletância total atenuada
BC	Breast cancer
BBD	Benign Breast Disease
BIRADS	Breast Imaging-Reporting and Data System
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
cfDNA	Cell-free DNA
CI	Confidence intervals
cm	Centímetros

CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CO	Control group
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECOG-PS	Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
e.g.	Example
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ER	Receptor de estrogênio
FAPEMIG	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
FTIR	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier
g	Gramas
G1	Well-differentiated tumor (low grade)
G2	Moderately differentiated tumor (intermediate grade)
G3	Poorly differentiated tumor (high grade)
HER2	<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor 2</i> ou receptor epidermal humano 2
HER2+	<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor 2</i> positive
HER2-	<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor 2</i> negative
HR	Hazard ratios
IL-10	Interleucina-10
IL-1BETA	Interleucina-1 BETA
IL-6	Interleucina-6
IQR	Intervalo Interquartil
Ki-67	Índice proliferativo
L/M	Razão linfócitos/monócitos
Max	Maximum
MG	Minas Gerais
Min	Minimum
ml	Mililitros
NR	Not Registered
N/L	Razão neutrófilos/linfócitos
OS	<i>Overall Survival</i> - sobrevida global

pg/mL	Picogramas por mililitro
pH	Potencial hidrogeniônico
PR	Receptor de progesterona
RDW	<i>Red Cell Distribution Width</i> - amplitude de distribuição das hemácias
Ref.	Reference
RNA	Ácido ribonucleico
ROC	Receiver Operating Characteristic
RPR	<i>Red cell Distribution Width-to-Platelet Ratio</i> - razão RDW/plaquetas
SD	Standard Deviation
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TAMs	Tumor-associated macrophages
TNM	Tumor primário [T], linfonodos regionais [N], metástases à distância [M]
Tregs	Regulatory T cells
UICC	International Union for Cancer Control
USA	United States of America

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	24
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	26
2.1 – Aspectos anatômicos mamários.....	26
2.2 – Doença benigna da mama.....	27
2.2.1 – Alterações não proliferativas	28
2.2.2 – Lesões proliferativas sem atipia	29
2.2.3 – Lesões proliferativas com atipia	33
2.2.4 – Lesões benignas diversas.....	34
2.3 – Considerações gerais sobre câncer	37
2.4 – Câncer de mama	39
2.4.1 – Definição e estatísticas	39
2.4.2 – Pré e pós menopausa.....	39
2.4.3 – Prevenção.....	40
2.4.4 – Sinais e sintomas	41
2.4.5 – Diagnóstico.....	42
2.4.6 – Classificação histológica	43
2.4.7 – Estadiamento	45
2.4.8 – Classificação molecular.....	46
2.4.8.1 – Luminal A.....	49
2.4.8.2 – Luminal B.....	49
2.4.8.3 – HER2 enriquecido	49
2.4.8.4 – Triplo negativo	50
2.4.8.5 – Demais subtipos.....	50
2.4.9 – Tratamento.....	51
2.5 – Fluidos biológicos.....	52
2.5.1 – Soro.....	52
2.5.2 – Saliva	54
2.6 – Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	58
2.7 – Classes de biomoléculas	67
2.7.1 – Lipídios	67
2.7.2 – Ácidos nucleicos.....	68
2.7.3 – Proteínas	68

2.7.4 – Carboidratos.....	69
2.8 – Progressão e metástase tumoral.....	70
2.9 – Marcadores inflamatórios sistêmicos	73
2.9.1 – Amplitude de distribuição das hemácias (RDW)	73
2.9.2 – Razão RDW/Plaquetas (RPR)	75
2.9.3 – Razão neutrófilos/linfócitos (N/L).....	77
2.9.4 – Razão linfócitos/monócitos (L/M).....	78
2.9.5 – Interleucina-1 BETA (IL-1BETA)	79
2.9.6 – Interleucina-6 (IL-6)	81
2.9.7 – Interleucina-10 (IL-10)	82
2.10 – Análise de sobrevida global.....	85
3 OBJETIVOS	87
Objetivo geral	87
Objetivos específicos.....	87
4 RESULTADOS	88
ARTIGO 1. “Comparative spectral analysis of blood and saliva in breast cancer, benign breast disease and healthy controls using ATR-FTIR”	88
ARTIGO 2. “Prognostic insights of inflammatory blood biomarkers as predictors of survival in advanced breast cancer”	117
5 CONCLUSÃO.....	135
6 PERSPECTIVAS.....	136
REFERENCIAS.....	138
ANEXOS.....	179
ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANDOS (CEP) - ARTIGO 1.....	179
ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANDOS (CEP) - ARTIGO 2.....	180

1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama representa o tipo de neoplasia maligna mais frequente entre mulheres em todo o mundo, com uma estimativa de mais de 2,3 milhões de casos novos por ano, além de estar entre as principais causas de mortalidade por câncer na população feminina (SUNG et al., 2021). Com os avanços terapêuticos e as estratégias de rastreamento, a detecção precoce e a estratificação prognóstica continuam sendo desafios centrais na prática oncológica. Essa dificuldade é intensificada pela heterogeneidade molecular da doença, que se expressa em diferentes subtipos biológicos com distintos comportamentos clínicos e respostas terapêuticas (HARBECK et al., 2019).

Nesse contexto, a espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com refletância total atenuada (ATR-FTIR) tem emergido como uma técnica analítica importante na detecção de alterações bioquímicas em fluidos biológicos, com destaque para sua aplicação em amostras de soro e saliva. Essa metodologia possibilita a identificação de padrões espectrais que refletem modificações nos níveis de lipídios, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos em tecidos ou líquidos corporais, podendo ser aplicada como ferramenta complementar na triagem ou no acompanhamento de pacientes oncológicos (BAKER et al., 2014). A utilização da saliva como fluido biológico é especialmente vantajosa por sua coleta não invasiva, praticidade, baixo custo e aceitabilidade. Estudo demonstrou que a saliva contém biomoléculas relevantes para a avaliação do câncer, tornando-se um campo promissor para a detecção precoce e monitoramento de doenças (ZHAO et al., 2023).

Paralelamente, torna-se essencial o desenvolvimento de abordagens diagnósticas e prognósticas inovadoras, de fácil aplicabilidade clínica e custo-efetivas. A análise de biomarcadores inflamatórios sistêmicos, como RDW (*Red Cell Distribution Width*), RPR (razão RDW/plaquetas), razão N/L (neutrófilos/linfócitos), razão L/M (linfócitos/monócitos), interleucina-1 beta (IL-1BETA), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-10 (IL-10), tem se mostrado promissora como ferramenta auxiliar na avaliação do microambiente tumoral, refletindo indiretamente o estado inflamatório e imunológico do indivíduo (CHEN^a et al., 2015; HU et al., 2018). Além disso, essas citocinas participam ativamente da regulação da inflamação e do escape imunológico, sendo associadas à progressão tumoral, angiogênese, resistência terapêutica e pior prognóstico em diferentes estágios do câncer de mama (KUMARI et al., 2016; TANAKA; NARAZAKI; KISHIMOTO, 2014).

A detecção precoce e a estratificação prognóstica são componentes essenciais para o manejo clínico eficaz da doença. Nos últimos anos, avanços na identificação de biomarcadores não invasivos vêm ganhando destaque, com potencial para otimizar tanto o diagnóstico quanto o prognóstico do câncer de mama, especialmente em contextos de recursos limitados.

Essas duas abordagens complementares, ATR-FTIR e a avaliação de marcadores inflamatórios sistêmicos circulantes, neste cenário, têm despertado interesse crescente. Estudos prévios demonstraram que a espectroscopia ATR-FTIR é capaz de identificar alterações bioquímicas em fluidos corporais, como o soro e a saliva, permitindo distinguir pacientes com câncer de mama de indivíduos com doenças benignas da mama e controles saudáveis (ZELIG et al., 2015; BACKHAUS et al., 2010; FERREIRA et al., 2020). No entanto, ainda são escassas as investigações que comparam simultaneamente esses dois tipos de amostras biológicas na mesma população de pacientes, limitando a compreensão sobre a robustez e a aplicabilidade clínica desse método em larga escala.

Concomitantemente, biomarcadores hematológicos sistêmicos como RDW, RPR, N/L, L/M, IL-1BETA, IL-6 e IL-10, têm sido associados a processos tumorais e ao microambiente inflamatório tumoral (MANTOVANI et al., 2017; GALDIERO et al., 2018; CHANG et al., 2021). Embora diversas evidências apontem para o potencial prognóstico desses parâmetros em pacientes com câncer de mama, os resultados permanecem controversos, sobretudo em coortes de pacientes com doença avançada (YIN et al., 2023; YAN et al., 2023).

Diante dessas lacunas, esta tese propõe uma abordagem multidimensional, apresentando a análise espectroscópica de fluidos biológicos (soro e saliva) e a avaliação de biomarcadores inflamatórios sistêmicos, a fim de oferecer uma avaliação mais ampla e precisa do estado fisiopatológico de pacientes com câncer de mama. Este trabalho busca contribuir para o avanço de ferramentas clínicas, com foco na medicina personalizada e na melhoria do cuidado oncológico.

A formatação desta tese segue o modelo alternativo do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, onde os resultados são apresentados no formato de artigos científicos. Contém as seguintes seções: introdução, fundamentação teórica, objetivos, resultados com a cópia dos dois artigos elaborados, conclusão e perspectivas.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 – Aspectos anatômicos mamários

A mama feminina é considerada uma glândula sudorípara modificada e altamente especializada, cuja função, é a produção de leite pelos lóbulos. Ela passa por diversas transformações de desenvolvimento que se iniciam na vida intrauterina e sofre modificações durante a puberdade, gravidez e lactação relacionadas ao tamanho, forma e função (JESINGER, 2014; FENG et al., 2018), reguladas principalmente pela produção hormonal (LANIGAN et al., 2007).

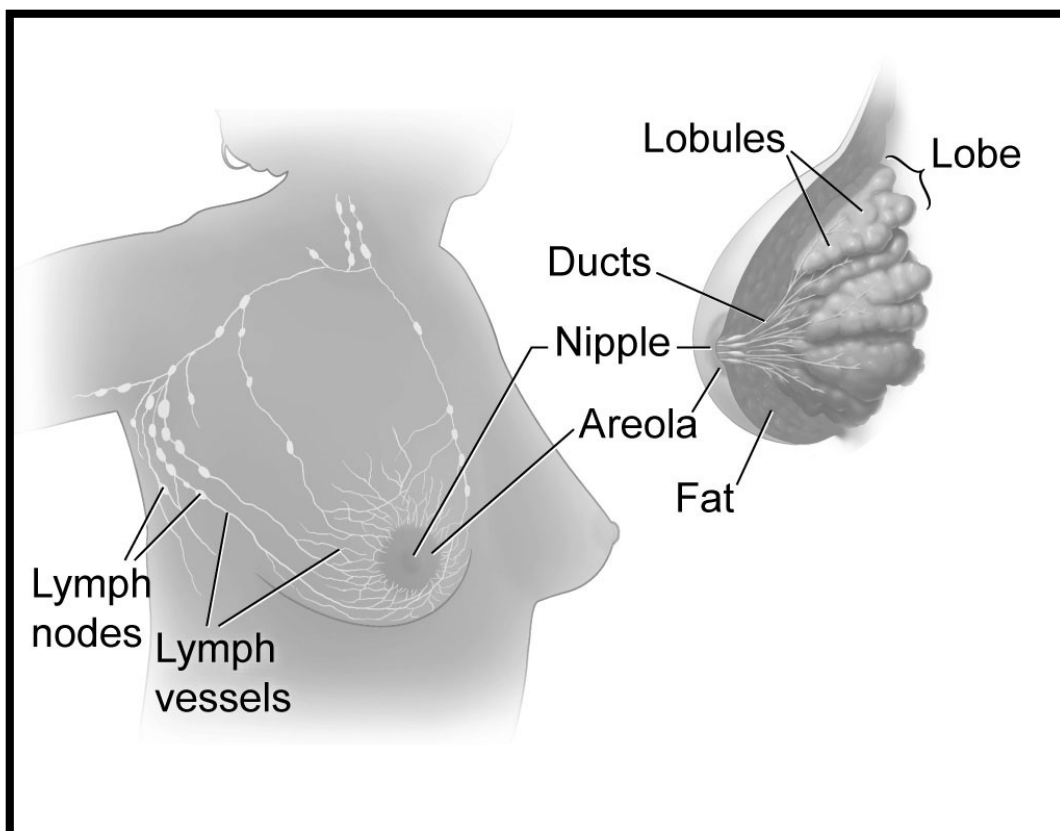
Conforme apresentado na Figura 1, são órgãos pares que se encontra na parede anterior e superior do tórax, apoiada sobre o músculo peitoral maior entre a segunda e a sétima costela no plano vertical e do esterno à linha axilar anterior no plano horizontal. Se estende até a axila o que é denominado de cauda de Spence. É envolvida por duas camadas de fáscia, a anterior que é superficial e a posterior que é profunda. A fáscia superficial se encontra logo abaixo da pele e do tecido adiposo subcutâneo. A fáscia profunda está posicionada atrás da glândula mamária e se conecta à fáscia do músculo peitoral maior. Entre essas duas camadas, existem estruturas fibrosas que as unem, conhecidas como ligamentos suspensores de Cooper que oferecem suporte à mama (MELITTO, 2022).

O epitélio mamário é formado por dois tipos principais de células: basal e luminal. A camada basal é a parte externa da camada contrátil que envolve a camada luminal, apresentando características semelhantes às células de músculos lisos devido à presença das células mioepiteliais. Já o epitélio luminal é a parte interna, responsável pela formação dos ductos, possui populações celulares influenciadas por receptores hormonais e contém células epiteliais em forma de cubo, que podem se transformar em células produtoras de leite (lactócitos) durante o período de amamentação (MACIAS; HINCK, 2012; HASSIOTOU; GEDDES, 2013).

Esse órgão, fundamental na saúde feminina, é frequentemente exposto a diversas mudanças que podem gerar inquietações para as mulheres e os profissionais de saúde. Essas mudanças podem afetar de maneira significativa a qualidade de vida e o bem-estar emocional das mulheres (NASCIMENTO; SILVA; GALHARDO, 2024). Na rotina da ginecologia, encontrar um nódulo nas mamas é algo comum. A maior parte desses nódulos é de natureza benigna, com uma frequência que se eleva após os 20 anos, tendo seu pico entre 40 e 50 anos. A compreensão detalhada das doenças benignas da mama permite ao profissional de saúde estabelecer condutas adequadas, indicar o seguimento correto, orientar as pacientes sobre a

natureza funcional ou patológica de cada achado, além de subsidiar estratégias de rastreamento e prevenção mais eficazes, alinhadas à estratificação de risco individual (STACHS et al., 2019).

Figura 1 – Anatomia da mama feminina



Fonte: Reproduzido de *National Cancer Institute*, 2012. Criada por Don Bliss e liberada em domínio público.

2.2 – Doença benigna da mama

As doenças benignas da mama (DBM) são caracterizadas como situações clínicas que se mostram através de desconforto e/ou presença de nódulos, que aparecem durante a fase reprodutiva feminina, começando e/ou se agravando na fase que antecede a menstruação, geralmente desaparecendo com a chegada da menopausa (GIRIANELLI; GAMARRA; AZEVEDO, 2014). Representam a grande maioria dos achados mamários, cerca de 70% a 80% das biópsias realizadas em populações rastreadas são benignas (SINGH; CHAKRABARTI, 2022).

Biópsias benignas são responsáveis por cerca de 70% dos procedimentos nos Estados Unidos da América, o equivalente a cerca de 1,19 milhões de biópsias benignas por ano, e cerca

de 50% nos programas de rastreamento na Europa (BURKE et al., 2025). No Brasil, estudos específicos sobre DBM são escassos, mas uma revisão recente indica que 80% das lesões mamárias palpáveis são benignas (SOUTO; LIMA, 2024). Esse panorama evidencia que as DBM são altamente prevalentes globalmente e no Brasil, requerendo protocolos clínicos e de imagem eficientes para evitar tratamentos desnecessários, além de vigilância adequada para descartar malignidade.

É fundamental o profissional de saúde realizar uma anamnese e uma investigação clínica minuciosa, levando em conta a faixa etária, o estado hormonal, fatores associados (como dor, mudanças na pele e aumento dos linfonodos); a evolução do nódulo, uso de medicamentos e possíveis fatores de risco. A propedêutica contém três componentes essenciais: exame físico, exames radiológicos e análises cito/histopatológicos (SOUTO; LIMA, 2024). O exame físico deve abranger a observação em repouso e em movimento, palpação e avaliação dos linfonodos das axilas, região infra e supra clavicular. A escolha do exame de imagem deve ser baseada na idade da paciente e na suspeita clínica. Os principais exames usados para triagem e diagnóstico incluem mamografia, ultrassom e ressonância magnética. Já a análise cito/histopatológicas é realizada por meio da biópsia (FERNANDES; SÁ, 2019).

Histologicamente, as lesões epiteliais benignas da mama podem ser classificadas em três principais categorias: alterações não proliferativas, lesões proliferativas sem atipias e lesões proliferativas com atipia. A categorização é baseada no grau de proliferação celular e atipia (WHO, 2019). Além dessa categorização, há também as lesões benignas diversas.

2.2.1 – Alterações não proliferativas

As alterações não proliferativas respondem por aproximadamente 70% das doenças benignas. Elas não estão ligadas a um aumento do risco de câncer de mama e o tratamento visa aliviar os sintomas. Dentre elas, estão as alterações fibrocísticas, que compreendem um grupo de mudanças funcionais benignas, como cistos, fibrose do estroma e adenose, normalmente associadas a descompensações hormonais (BLAND; COPELAND, 1993); cistos simples, que são estrutura cheias de líquido, frequentes em mulheres entre 35 e 50 anos, e costumam ser facilmente identificadas por meio de ultrassonografia mamária; e a ectasia ductal, que se refere à dilatação dos ductos que transportam o leite, frequentemente ligada a inflamação crônica e secreção mamilar, que geralmente é serosa ou serossanguinolenta (PRICE, 2011).

Outras lesões não proliferativas incluem galactoceles, alterações apócrinas papilares, calcificações e hiperplasia leve do tipo usual. A metaplasia apócrina, que é uma modificação

epitelial benigna, é uma alteração não proliferativa que surge em resposta à irritação, normalmente associada a um cisto mamário (SOUTO; LIMA, 2024).

Sobre os cistos simples, é esperado que metade das mulheres desenvolva um nódulo mamário benigno em algum ponto de suas vidas, sendo que cerca de 25% dessas lesões são cistos, que são mais comuns na faixa etária de 35 a 50 anos. Geralmente, esses nódulos são benignos, com bordas lisas e bem definidas, podendo ocorrer de forma única ou múltipla, unilateral ou bilateral, variando em tamanho e consistência. Eles podem provocar dor devido a um crescimento repentino (BAGNOLI et al., 2017). Além dos cistos simples, também existem os cistos complicados ou complexos, que são definidos pelas características ultrassonográficas segundo a classificação BI-RADS (*Breast Imaging-Reporting and Data System*), a qual orienta as decisões clínicas e a necessidade de biópsia. A maioria dos cistos complicados é classificada como BI-RADS 2, ou seja, considerados benignos e que não exigem biópsia. Às vezes, os cistos complicados podem ser categorizados como BI-RADS 3, que são provavelmente benignos, e para os quais recomenda-se acompanhamento clínico e exames de imagem em um intervalo curto de seis meses. Já os cistos complexos classificados como BI-RADS 4 ou 5, são suspeitos ou bastante indicativos de malignidade, o que torna necessária a realização de uma biópsia (SOUTO; LIMA, 2024).

Outras alterações não proliferativas são a galactocele, as alterações apócrinas papilares e a hiperplasia leve do tipo usual, conforme dito anteriormente. A galactocele é definida como um acúmulo de líquido em forma de cisto resultante da obstrução do canal mamário. Durante o exame físico, aparecem como massas em forma de cisto. Na mamografia, podem ser vistas como massas que não têm um diagnóstico claro. O ultrassom pode detectar uma massa que apresenta características complexas. O diagnóstico pode ser feito com base na anamnese da paciente e no procedimento de aspiração, que revela uma substância semelhante ao leite. A remoção cirúrgica não é necessária e não há um risco elevado de câncer (SOUTO; LIMA, 2024). Quanto às alterações apócrinas papilares, caracterizam-se pela multiplicação de células epiteliais nos ductos, que possuem características apócrinas, descritas pelo citoplasma eosinofílico (SCHNITT, 2000). Já a hiperplasia leve do tipo usual, refere-se ao aumento do número de células epiteliais em um ducto que possui mais de duas, mas não mais de quatro células de profundidade. As células epiteliais não invadem o espaço do lúmen presente (SCHNITT, 2000).

2.2.2 – Lesões proliferativas sem atipia

Sobre as lesões proliferativas sem atipia pode-se citar, a hiperplasia ductal usual, o papiloma intraductal, a adenose esclerosante, o fibroadenoma, as cicatrizes radiais, o adenoma e a hiperplasia estromal pseudoangiomatosa (WHO, 2019). São fatores de risco não modificáveis para câncer de mama e geralmente envolvem a vigilância com exames de imagem e acompanhamento médico em vez de intervenção cirúrgica. A decisão do tratamento depende de fatores como o tipo de lesão, risco individual de câncer de mama e concordância entre os achados radiológicos e patológicos (ONCOGUIA, 2024).

A hiperplasia ductal usual é um diagnóstico que geralmente é identificado como um achado não intencional em biópsias. Se caracteriza pelo aumento da quantidade de células nos ductos, sem apresentar características atípicas. Embora as células possam ter diferentes tamanhos e formas, elas continuam apresentando as características celulares próprias de células benignas. Não há necessidade de tratamento (SOUTO; LIMA, 2024; SCHNITT, 2000).

Os papilomas intraductais são formados por um conjunto de células que se desenvolvem dentro de ductos a partir da parede de um cisto presente no seu interior, podendo resultar em secreção mamilar com uma coloração serossanguinolenta. Papilomas solitários não aumentam significativamente o risco de uma condição maligna, mas a presença de múltiplos papilomas pode elevar ligeiramente este risco e/ou conter áreas de atipia ou carcinoma ductal *in situ* (CDIS) associados (SCHNITT, 2000).

Essas lesões mamárias são frequentes, sendo identificadas em 5% a 10% de todas as biópsias mamárias realizadas. Papilomas sem atipia não estão ligados a uma possibilidade maior de diagnóstico de câncer de mama posteriormente, enquanto os papilomas atípicos têm sido associados a um risco elevado para câncer de mama no futuro (NAKHLIS et al., 2020). A presença de atipia em um papiloma encontrado em biópsia por agulha grossa aumenta a chance de encontrar uma malignidade durante a excisão, com relatos indicando que isso ocorre em até 41% dos casos, justificando assim a remoção rotineira dessas lesões. Por outro lado, a pesquisa atual sobre papilomas sem atipia em biópsias por agulha grossa ainda é incerta, com taxas de progressão para malignidade variando de 0% a 12% (NAKHLIS et al., 2020).

As orientações atuais indicam que a decisão de remover um papiloma deve ser adaptada a cada caso, levando em conta fatores como tamanho, presença de sintomas e riscos de câncer de mama. A remoção é indicada quando há atipia, a presença de uma massa palpável, secreção sanguínea nos mamilos, especialmente para aliviar sintomas, e/ou divergências nas imagens patológicas. Por outro lado, pequenos papilomas solitários e benignos, que são encontrados incidentalmente sem sinais de atipia, diagnosticados por meio de biópsia de agulha grossa e

com imagens concordantes, podem apenas ser monitorados (THE AMERICAN SOCIETY OF BREAST SURGEONS, 2016).

A papilomatose difusa, que envolve múltiplos papilomas, pode aparecer como massas ou nódulos nas mamas durante ultrassonografias e pode provocar secreção nos mamilos, podendo ser identificada também em ductografias. Esta condição é caracterizada pela presença de pelo menos cinco papilomas em uma área específica do tecido mamário e pode ser tratada de forma definitiva através da excisão (SOUTO; LIMA, 2024).

Outra lesão proliferativa sem atipia é a adenose esclerosante, que se caracteriza por um crescimento acinar que pode imitar um câncer nas imagens de mamografia ou ultrassom, embora não possua um real potencial agressivo. Trata-se de uma alteração lobular que apresenta um aumento na quantidade de tecido fibroso com células glandulares misturadas. A probabilidade de desenvolver câncer de mama é o dobro em relação à população geral. Não há indicação de tratamento para adenose esclerosante quando não há presença de atipia (VISSCHER et al., 2014).

O fibroadenoma é a lesão proliferativa sem atipia mais frequente nas mamas, representando cerca de 7% a 13% das anomalias mamárias nas mulheres, podendo chegar a 50% a 75% nas biópsias de jovens com menos de 35 anos. Trata-se de uma formação sólida, móvel e sem dor, composta pela proliferação de tecido fibroso e componentes glandulares. A causa exata não é conhecida, mas provavelmente há um vínculo hormonal, já que seu tamanho pode aumentar durante a gravidez ou com o uso de estrogênio, além de geralmente reduzir após a menopausa (WHO, 2019; EL-WAKEEL; UMPLEBY, 2003). Esse tipo de tumor é mais prevalente em mulheres entre 15 e 35 anos. O ultrassom mostra uma massa sólida e bem delimitada. A mamografia não é recomendada para a avaliação de massas em adolescentes, pois a grande quantidade de tecido glandular dificulta a sua análise nessa faixa etária (SOUTO; LIMA, 2024).

Do ponto de vista histológico, o fibroadenoma é composto por estroma em proliferação (HUDSON-PHILLIPS et al., 2022). O tratamento consiste em monitoramento cuidadoso. A maioria dos fibroadenomas em adolescentes tende a diminuir de tamanho ou até desaparecer com o tempo. Fibroadenomas que têm menos de 5 cm e não apresentam características preocupantes podem ser apenas observados quanto ao seu crescimento ou involução. Caso as imagens da ultrassonografia sejam completamente compatíveis com um fibroadenoma, a massa não precisará ser submetida a biópsia ou excisão. Casos de câncer associados a um fibroadenoma já existente em adolescentes são incomuns. Contudo, se a lesão atingir mais de 5

cm ou perdurar na fase adulta, a biópsia excisional se torna necessária. A cirurgia para remoção pode acarretar algumas desvantagens, como cicatrizes na área da incisão, dano ao sistema ductal da mama e alterações nas imagens mamográficas (SOUTO; LIMA, 2024).

Fibroadenomas simples são formados por tumores sólidos benignos compostos de tecido glandular e fibroso. Para pacientes que não apresentam sintomas, a abordagem recomendada é a observação. Se um fibroadenoma simples suspeito crescer de modo significativo ou causar sintomas, é necessário realizar uma excisão para verificar possíveis alterações malignas e confirmar o diagnóstico (SOUTO; LIMA, 2024). Já fibroadenomas complexos, são identificados por outras modificações proliferativas, como adenose esclerosante, hiperplasia epitelial ductal, calcificações epiteliais ou alterações apócrinas papilares. Eles estão relacionados a um leve aumento no risco de câncer, especialmente quando há múltiplas alterações proliferativas no tecido glandular ao redor. O tratamento para esses casos é debatido, podendo envolver a remoção total para análise histológica ou um tratamento conservador após biópsia central (STACHS et al., 2019).

Os fibroadenomas gigantes são considerados histologicamente típicos e possuem mais de 10 cm. A excisão é recomendada nesses casos. O maior desafio para o patologista é identificar essas lesões dos tumores filoides, que possuem um componente estromal mais celular em comparação com os fibroadenomas (SCHNITT, 2000). Já os fibroadenomas juvenis, aparecem em mulheres jovens entre 10 e 18 anos e podem apresentar diferenças em relação à apresentação e ao tratamento em comparação com os fibroadenomas em adultos (SOUTO; LIMA, 2024).

As cicatrizes radiais, por sua vez conhecidas como lesões esclerosantes complexas, são lesões proliferativas sem atipia que costumam ser identificadas de maneira incidental quando uma massa na mama ou uma anormalidade detectada por métodos de imagem é removida ou submetida a uma biópsia. Às vezes, essas cicatrizes radiais são suficientemente grandes para serem vistas na mamografia como massas com contornos irregulares e suspeitas, e diferenciar estas de carcinomas espiculados somente com exames de imagem é difícil (SOUTO; LIMA, 2024). As diretrizes atuais recomendam a excisão da maioria das cicatrizes radiais, embora um acompanhamento através de exames de imagem seja aceitável para lesões que não podem ser sentidas e que estejam em concordância entre imagem e doença. Nenhum tratamento adicional além da retirada é necessário. O risco de câncer nesta população é baixo, portanto, não é indicada a quimioprevenção (THE AMERICAN SOCIETY OF BREAST SURGEONS, 2016).

Já o adenoma é formado por tumores epiteliais exclusivos da mama. Eles são classificados em dois grupos principais: adenomas tubulares e lactantes. Os adenomas lactantes são mais frequentemente encontrados durante a gestação, apresentando traços bem delimitados e com aspecto lobulado. Em razão de seu tamanho, podem requerer intervenção cirúrgica para remoção, mas não têm chance de se tornarem malignos (SOUTO; LIMA, 2024). Por outro lado, o adenoma tubular é uma forma rara de tumor benigno da mama que afeta mulheres jovens antes da menopausa (EFARED et al., 2018). As características observadas nas imagens ou nas células não são exclusivas, por isso, a remoção cirúrgica é essencial para obter um diagnóstico por meio da análise histopatológica (SENGUPTA et al., 2014).

Por sua vez, a hiperplasia estromal pseudoangiomatosa, outra lesão proliferativa sem atipia, é um crescimento benigno do estroma que imita, em termos histológicos, uma condição vascular. Ela pode se manifestar como um nódulo ou um aumento de espessura durante o exame físico. A forma mais frequente observada nos exames de imagem é uma massa sólida, bem contornada e sem calcificações. Se houver características que levantem suspeitas, é importante realizar uma biópsia excisional (SOUTO; LIMA, 2024).

2.2.3 – Lesões proliferativas com atipia

As lesões proliferativas com atipia representam um importante grupo intermediário entre alterações benignas e as neoplasias malignas *in situ*, compondo uma categoria de alto risco para evolução para câncer invasivo (WHO, 2019; HARTMANN et al., 2005). Nesse grupo destacam-se três entidades principais: Hiperplasia Ductal Atípica (HDA), Hiperplasia Lobular Atípica (HLA) e o Carcinoma Lobular *in situ* (CLIS). Todas têm relevância clínica porque indicam uma maior probabilidade de transformação neoplásica subsequente, justificando acompanhamento rigoroso e, em alguns casos, intervenção cirúrgica ou quimioprevenção (HARTMANN et al., 2005; KADER et al., 2018).

A HDA é uma proliferação clonal de células epiteliais ductais, com padrão citológico e arquitetural semelhante ao CDIS, porém limitada em extensão ou complexidade (WHO, 2019). Para diferenciar HDA de CDIS, critérios quantitativos são essenciais: HDA geralmente é restrita a ≤ 2 mm ou a ≤ 2 espaços ductais totalmente envolvidos (KADER et al., 2018). Estudos de coorte demonstram que mulheres com diagnóstico de HDA apresentam risco relativo 4 a 5 vezes maior de desenvolver câncer de mama invasivo (HARTMANN et al., 2005).

A Hiperplasia Lobular Atípica (HLA) e o CLIS pertencem ao mesmo espectro histopatológico, caracterizado por proliferação de células lobulares monomórficas e não

coesivas, que preenchem parcial ou totalmente os lóbulos mamários (WHO, 2019; BROT et al., 2017). A distinção entre HLA e CLIS é quantitativa, HLA ocupa parte de um ou mais lóbulos (geralmente $\leq 50\%$ do lóbulo) e o CLIS ocupa todo ou quase todo o lóbulo ou unidade ducto-lobular terminal (WHO, 2019). Ambos são marcadores de risco e lesões precursoras, associando-se a um risco relativo 4 a 10 vezes maior de carcinoma invasivo, que pode ocorrer em ambas as mamas, sendo frequentemente multicêntrico e bilateral (HARTMANN et al., 2005; BROT et al., 2017).

Historicamente, o CLIS era visto apenas como um marcador de risco, mas evidências mostram que alguns subtipos, como o CLIS pleomórfico, podem apresentar comportamento biológico mais agressivo, aproximando-se de um carcinoma *in situ* verdadeiro e justificando, em alguns casos, ressecção mais ampla (KADER et al., 2018; LI et al., 2021).

Para a HDA, a principal preocupação é o subdiagnóstico de carcinoma ductal *in situ* ou invasivo, razão pela qual excisão cirúrgica complementar é recomendada após biópsia percutânea (WHO, 2019). A taxa de “*upstaging*” chega de 20% a 40% (KADER et al., 2018). Para HLA e CLIS, o manejo é mais individualizado. Se a biópsia percutânea mostra HLA/CLIS, mas a correlação radiológica é discordante ou se há margens comprometidas, a excisão cirúrgica também é indicada (BROT et al., 2017; LI et al., 2021). Em situações em que a área suspeita é completamente removida e bem correlacionada com a imagem, pode-se adotar vigilância ativa, discutindo caso a caso em reunião multidisciplinar. Além disso, mulheres com HLA ou CLIS podem se beneficiar de quimioprevenção com tamoxifeno ou inibidores de aromatase, que demonstrou redução significativa do risco de câncer invasivo subsequente (KADER et al., 2018).

Mulheres diagnosticadas com HDA, HLA ou CLIS devem ser estratificadas como de risco elevado e acompanhadas com mamografia anual. A ressonância magnética pode ser considerada em casos selecionados, especialmente se houver história familiar de câncer de mama ou mamas densas (LI et al., 2021; KADER et al., 2018).

2.2.4 – Lesões benignas diversas

Os lipomas são tumores benignos, frequentemente únicos, formados por células de gordura maduras, os quais não apresentam características histológicas de tecido mamário. Aparecem como massas sem dor e bem definidas. Clinicamente, pode ser desafiador diferenciar lipomas de outras condições. Essas lesões precisam ser removidas cirurgicamente se houver incerteza no diagnóstico, caso continuem a se ampliar ou cresçam de forma acelerada. Para

lesões que são menos graves, a biópsia excisional geralmente é a opção preferida. Não há elevação do risco de câncer de mama (SOUTO; LIMA, 2024).

A necrose adiposa ou esteatonecrose é causada por um trauma ou uma cirurgia anterior. Pode ter aspectos físicos parecidos com os de um câncer maligno. Na ultrassonografia, aparece com a aparência de um complexo sólido-cístico, enquanto na mamografia exibe uma imagem típica com calcificações grandes e distróficas. Após a confirmação do diagnóstico, não eleva o risco de câncer de mama e não necessita de monitoramento específico (FERNANDES; SÁ, 2019).

A sarcoidose se manifesta como nódulos rígidos em indivíduos que têm comprometimento sistêmico devido à doença. Na mamografia, as imagens podem ser preocupantes, mostrando nódulos irregulares, pouco delimitados, com bordas espiculadas e sólidas quando observados em ultrassonografia. A confirmação do diagnóstico depende da realização de uma biópsia. Não se observa um aumento no risco de câncer de mama (SOUTO; LIMA, 2024).

O tumor phyllodes apresenta características clínicas semelhantes às do fibroadenoma, mas se destaca por seu tamanho maior e crescimento acelerado. A faixa etária em que ocorre varia entre 30 e 50 anos. Essas lesões são fibroepiteliais proliferativas, apresentando um estroma com maior celularidade. Elas se dividem em três categorias: benigna, borderline e maligna, com a classificação dependendo do número de mitoses e da celularidade do estroma. A complicação mais comum é a recorrência na mesma área. Mesmo com os melhores procedimentos cirúrgicos, é sabido que os tumores filoides têm uma taxa de recorrência local que varia conforme o grau do tumor. Os tumores que voltam a aparecer são abordados com cirurgia e/ou radioterapia, visando evitar novas recorrências e a necessidade de mais intervenções cirúrgicas (BAGNOLI et al., 2017; SIEGEL; CHUNG, 2017).

Hamartomas são tumores não cancerosos, frequentemente chamados de fibroadenolipomas, lipofibroadenomas ou adenolipomas. Eles contêm diferentes proporções de tecido glandular, adiposo e fibroso (SOUTO; LIMA, 2024). Aparecem como massas discretas e encapsuladas, descritas como “mama dentro da mama”, que não causam dor, podendo ser sentidas ou descobertas acidentalmente durante mamografias de triagem. Assim, a maioria dos hamartomas identificados em exames de rastreamento pode ser monitorada de forma segura. Contudo, por não apresentarem características diagnósticas claras na biópsia, hamartomas que causam sintomas ou que apresentam resultados inconclusivos precisam ser removidos por meio de cirurgia (MAHMOUD et al., 2021).

A mastopatia diabética representa uma condição não maligna que é frequentemente identificada em mulheres na fase pré-menopausal, com idades entre 20 e 40 anos, que possuem diabetes mellitus tipo 1 prolongado e suas complicações. Também é observada em mulheres com diabetes tipo 2 e em homens. Para os pacientes que não têm diabetes, essa condição é comumente chamada de mastite linfocítica ou mastopatia linfocítica. Ela é considerada rara e sua causa não é bem compreendida, podendo sugerir uma resposta autoimune, uma vez que suas características histológicas se assemelham às vistas em outras doenças autoimunes (AGOCHUKWU; WONG, 2017). O quadro clínico típico envolve a presença de massas mamárias que aparentam ser suspeitas, mal definidas, sem dor e móveis (GUZIK et al., 2021). Essas massas podem ser únicas ou múltiplas, afetar um ou ambos os lados e englobar todos os quadrantes da mama, sem afetar a axila (GUZIK et al., 2021; NASSER et al., 2020). Para confirmar o diagnóstico, é recomendado realizar uma biópsia com orientação por imagem. A cirurgia é necessária caso a biópsia não forneça resultados conclusivos ou se os achados não corresponderem às imagens. Em situações de pacientes sem sintomas, e após o diagnóstico já ter sido confirmado, a excisão não se faz necessária, podendo ser indicada apenas para aqueles que apresentam sintomas. O monitoramento é essencial, pois pode haver o surgimento de novas lesões ou a reincidência após a cirurgia (AGOCHUKWU; WONG, 2017).

A mastite granulomatosa idiopática se caracteriza por uma inflamação na mama que apresenta sintomas e sinais de imagem que podem ser similares à mastite não puerperal, abscesso mamário ou, com mais frequência, a um câncer. Para se fazer o diagnóstico correto, é necessário realizar uma biópsia (DIXON; KHAN, 2011). Já as infecções mamárias, que incluem a mastite puerperal e os abscessos, ocorrem com maior frequência durante o período de amamentação. A mastite não puerperal é menos frequente e pode estar relacionada com fatores como tabagismo ou ectasia dos ductos mamários (AMIR et al., 2021).

Compreender as doenças benignas da mama é essencial para a prática clínica, pois essas condições representam a forma mais frequente de alterações mamárias e são responsáveis por grande parte das consultas, exames e procedimentos diagnósticos realizados na rotina ginecológica e mastológica. Além de serem comuns, algumas dessas lesões benignas possuem relevância adicional por estarem associadas a um risco aumentado de evolução para o câncer de mama. Assim, conhecer em profundidade as doenças benignas da mama não apenas possibilita o manejo adequado de alterações funcionais e a redução de procedimentos desnecessários, mas também é fundamental para identificar precocemente mulheres em grupos

de risco aumentado para câncer de mama, orientando estratégias de prevenção, rastreamento e diagnóstico precoce.

2.3 – Considerações gerais sobre câncer

O câncer é definido como um grupo heterogêneo de doenças que têm como característica central a proliferação celular desordenada, invasiva e potencialmente metastática, resultante de alterações genéticas e epigenéticas acumuladas nas células ao longo do tempo (HANAHAHAN, 2022).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2022, estima-se que houve 20 milhões de novos casos de câncer e 9,7 milhões de mortes. O número estimado de pessoas que sobreviveram até 5 anos após o diagnóstico de câncer foi de 53,5 milhões. Cerca de uma em cada cinco pessoas desenvolve câncer ao longo da vida e aproximadamente um em cada nove homens e uma em cada doze mulheres morrem da doença (WHO_a, 2024).

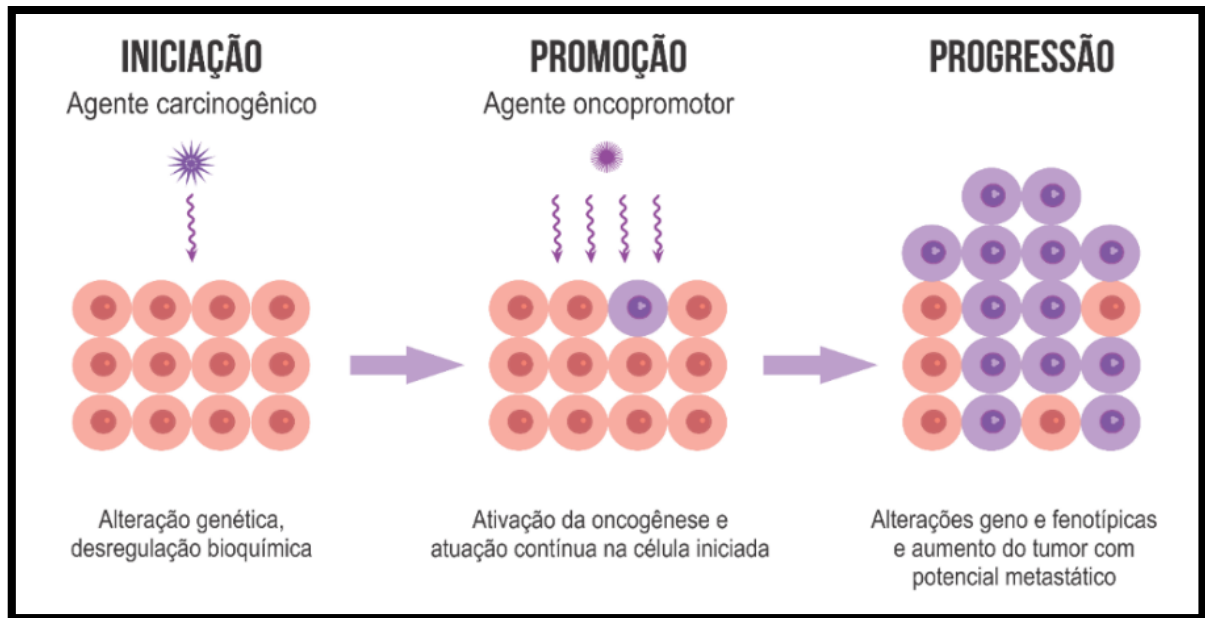
Os tipos de câncer mais incidentes variam de acordo com a região, fatores socioeconômicos e hábitos de vida. Globalmente, os cânceres de pulmão, mama, colorretal, próstata e estômago estão entre os mais frequentes (BRAY et al., 2024). No entanto, há marcantes desigualdades regionais: em países de baixa e média renda, o acesso restrito a diagnóstico precoce e tratamento adequado contribui para taxas de mortalidade proporcionalmente mais elevadas (SUNG et al., 2021).

Do ponto de vista etiológico, a carcinogênese (Figura 2) é um processo multifatorial e inclui a iniciação, promoção e progressão, reguladas por mutações em oncogenes, genes supressores tumorais e alterações no microambiente tumoral (HANAHAHAN, 2022). A exposição prolongada a agentes carcinogênicos, como tabagismo, dieta inadequada, consumo de álcool, radiações ionizantes e infecções crônicas por vírus oncogênicos (HPV - Papilomavírus Humano; vírus da hepatite B e vírus da hepatite C), está associada a aproximadamente 40% dos casos de câncer (WILD; WEIDERPASS; STEWART, 2020). Além dos fatores ambientais e comportamentais, predisposições genéticas, mutações germinativas hereditárias e polimorfismos de susceptibilidade também desempenham papel importante (GARRAWAY; VERWEIJ; BALLMAN, 2013).

O câncer resulta de uma sucessão de alterações que conferem vantagens seletivas às células tumorais. Hanahan e Weinberg (2011) descreveram os “marcos do câncer” (*Hallmarks of Cancer*), que incluem capacidades adquiridas como a evasão da morte celular programada, sustentação de sinalização proliferativa, indução de angiogênese, ativação de invasão e

metástase, entre outros. Estudos destacam novas dimensões, como a influência do microbioma, o papel da inflamação crônica e a plasticidade celular como fatores críticos na progressão tumoral (HANAHAN, 2022).

Figura 2 – Etapas da carcinogênese



Fonte: Reproduzido de LIMA; BELIAN; SILVA, 2024, sob termos e condições da licença *Brazilian Journals Editora*.

No campo do diagnóstico, os avanços em biologia molecular, genômica e tecnologias de imagem têm permitido detecção mais precoce e caracterização mais precisa dos tumores (WAN et al., 2017). A biópsia líquida, que avalia DNA (ácido desoxirribonucleico) tumoral circulante, exossomos e células tumorais circulantes, emerge como ferramenta promissora para rastreamento, estadiamento dinâmico e monitoramento de resposta terapêutica (SIRAVEGNA et al., 2017).

Em relação à prevenção, estratégias de redução de risco, como políticas de controle do tabagismo, vacinação contra HPV e hepatite B, triagem organizada para câncer de colo de útero, mama e colorretal, e promoção de estilos de vida saudáveis, são medidas comprovadamente eficazes para reduzir a incidência de certos tipos de câncer (WILD; WEIDERPASS; STEWART, 2020).

Contudo, o controle global do câncer ainda enfrenta desafios complexos. Barreiras socioeconômicas, disparidades regionais, estigmas culturais e desigualdade no acesso a

tecnologias inovadoras, dificultam a equidade no cuidado oncológico (SUNG et al., 2021). Assim, além dos avanços biomédicos, políticas públicas de saúde, educação comunitária e fortalecimento dos sistemas de saúde são essenciais para enfrentar a crescente carga global da doença.

Após compreender o conceito amplo de câncer, torna-se essencial aprofundar o estudo sobre o câncer de mama, que permanece como a neoplasia maligna mais incidente entre as mulheres, sendo responsável por elevada taxa de morbimortalidade, apesar dos avanços nos métodos de rastreamento, diagnóstico e tratamento (HARBECK et al., 2019). Dessa forma, investigar as características clínicas, histopatológicas, moleculares e os fatores de risco específicos do câncer de mama é imprescindível para a construção de estratégias eficazes de prevenção, diagnóstico precoce e terapêutica personalizada, que contribuam para reduzir o impacto social e econômico dessa doença.

2.4 – Câncer de mama

2.4.1 – Definição e estatísticas

O câncer de mama é definido como uma doença em que células anormais nas mamas se multiplicam desordenadamente, formando um tumor maligno com potencial de invadir outros tecidos e órgãos. É o tipo de câncer mais incidente entre as mulheres em todo o mundo, representando aproximadamente 25% de todos os casos novos (SUNG et al., 2021). Em contrapartida, o câncer de mama masculino é raro, representando cerca de 1% de todos os casos da doença. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, 2,3 milhões de casos foram diagnosticados e 670 mil mortes ocorreram globalmente em 2022 (WHO_b, 2024). No Brasil, excluídos os tumores de pele não melanoma, o câncer de mama é o mais incidente em mulheres de todas as regiões, com taxas mais altas nas regiões sul e sudeste. Para cada ano do triênio de 2023 a 2025, foram estimados mais de 73 mil casos novos, o que representa uma taxa ajustada de incidência de 41,89 casos por 100 mil mulheres (INCA, 2024).

2.4.2 – Pré e pós menopausa

Esta doença apresenta diferenças marcantes entre mulheres na pré e na pós-menopausa quanto à distribuição, fatores associados e impacto em saúde pública. Globalmente, em 2018, cerca de 30% dos casos e 21% das mortes por câncer de mama ocorreram em mulheres na pré-menopausa (idade <50 anos), proporção significativamente maior em países de baixa e média

renda, enquanto países de alto desenvolvimento humano concentram a maior carga de câncer de mama pós-menopausa (HEER, et al., 2020). A incidência do câncer de mama pós-menopausa é substancialmente mais elevada em países desenvolvidos e está fortemente associada a fatores como obesidade, sedentarismo, consumo de álcool, uso de terapia hormonal e maior acesso a programas de rastreamento. Em contraste, o aumento da incidência do câncer de mama pré-menopausa, observado principalmente em países de alta renda, parece estar relacionado a mudanças nos padrões reprodutivos, como menor número de filhos e maternidade tardia, além de possíveis efeitos do rastreamento em idades mais jovens. Apesar de menor incidência absoluta, o câncer de mama pré-menopausa apresenta maior dificuldade diagnóstica e maior letalidade em países menos desenvolvidos, refletindo desigualdades no acesso ao diagnóstico precoce e ao tratamento, o que reforça a necessidade de estratégias diferenciadas de prevenção, detecção e cuidado conforme o status menopausal e o contexto socioeconômico (HEER, et al., 2020).

2.4.3 – Prevenção

Dada a sua alta carga de morbimortalidade, estratégias de prevenção são fundamentais para reduzir a incidência, mortalidade e impacto socioeconômico (WHO, 2020). A prevenção envolve intervenções sobre fatores de risco modificáveis para reduzir a probabilidade de surgimento da doença. Diversos fatores de risco comportamentais e ambientais estão associados ao câncer de mama, incluindo, o consumo de bebidas alcoólicas, mesmo em níveis moderados, aumenta o risco de câncer de mama em até 7% a 10% para cada 10 g/dia de etanol ingerido (SCOCCIANI et al., 2016; LOCONTE et al., 2018). A obesidade e sobrepeso, especialmente em mulheres na pós-menopausa, está associada a um aumento de até 30% no risco relativo, em função da produção periférica de estrogênio no tecido adiposo (LAUBY-SECRETAN et al., 2016; HURSTING et al., 2012). Quanto ao sedentarismo, sabe-se que níveis adequados de atividade física reduzem o risco em 10% a 20%, sobretudo em mulheres na pós-menopausa (FRIEDENREICH et al., 2016; ROCK et al., 2020). Além dos fatores comportamentais, a terapia de reposição hormonal prolongada (>5 anos) eleva o risco de câncer de mama invasivo, especialmente quando se utiliza uma combinação de estrogênio e progesterona (COLLABORATIVE GROUP ON HORMONAL FACTORS IN BREAST CANCER, 2019).

As estratégias de prevenção incluem a promoção de atividade física regular, com recomendação mínima de 150 minutos de atividade moderada por semana (WHO, 2020), aconselhamento para redução ou cessação do consumo de álcool, promoção de dieta

equilibrada, rica em vegetais, frutas e fibras, embora as evidências sobre dieta isolada sejam ainda limitadas para redução do risco (ROCK et al., 2020), controle do peso corporal, especialmente em mulheres na menopausa e evitar terapia de reposição hormonal prolongada, quando possível. Além disso, o autoconhecimento das mamas pode auxiliar na conscientização corporal e facilitar o diagnóstico precoce, principalmente em países com menor cobertura de rastreamento (HACKSHAW; PAUL, 2003) e o exame clínico das mamas, realizado por profissional capacitado, também é uma estratégia complementar em locais com acesso limitado à mamografia, que por sua vez, é o método mais eficaz de rastreamento para detecção precoce do câncer de mama em mulheres assintomáticas (WHO, 2020).

2.4.4 – Sinais e sintomas

O câncer de mama, quando em estágio inicial, pode ser assintomático. No entanto, à medida que a doença evolui, sinais e sintomas tornam-se mais evidentes. O sinal clínico mais comum é a presença de nódulo palpável, geralmente indolor, firme, irregular e de crescimento progressivo. Aproximadamente 80% das mulheres que recebem diagnóstico de câncer de mama percebem um nódulo durante o autoexame ou exame clínico de rotina (SIU, 2016).

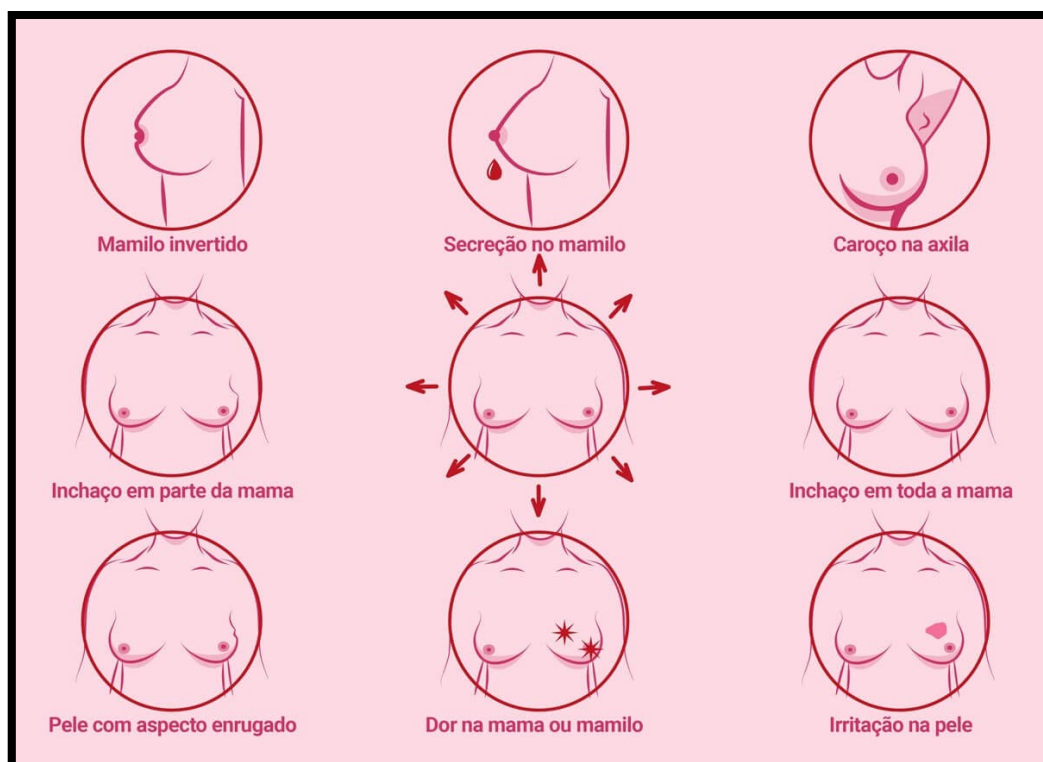
Conforme apresentado na Figura 3, além do nódulo, existem outros sinais e sintomas que merecem atenção. Alterações cutâneas, como retratação da pele, aspecto de casca de laranja (*peau d'orange*) devido ao edema linfático, ulceração em casos avançados (RAKHA et al., 2010); alterações no complexo aréolo-mamilar, como inversão do mamilo, descamação ou secreção mamilar, que pode ser serossanguinolenta (GUPTA; MENDELSON; KARST, 2020) e dor mamária, que é incomum em fases iniciais, mas pode ocorrer, principalmente em tumores localmente avançados ou inflamatórios (CARDOSO et al., 2019).

Sinais sistêmicos, como perda de peso, dor óssea, dispneia ou sintomas neurológicos, podem indicar metástases à distância, sendo mais comuns em estágios avançados (CARDOSO et al., 2019). Portanto, o reconhecimento precoce dos sinais clínicos, associado ao rastreamento sistemático, permanece essencial para o diagnóstico em fases iniciais, quando as taxas de cura são mais elevadas (TABÁR et al., 2011).

Uma das principais prioridades da Política Nacional de Saúde é a identificação precoce do câncer de mama através de estratégias planejadas voltadas para o controle, rastreamento e diagnóstico antecipado (GEBRIM, 2016). As orientações para a identificação precoce do câncer de mama no Brasil foram desenvolvidas com base na organização de evidências provenientes de pesquisas científicas, alinhadas à Lei nº 12. 401/2011, ao Decreto nº 7. 508/2011 e à Política

Nacional de Gestão de Tecnologias em Saúde, constituindo um avanço significativo na solidificação da prática de criação de documentos técnicos e políticas públicas baseadas em evidências (BRASIL, 2013; GEBRIM, 2016).

Figura 3 – Sinais e sintomas do câncer de mama



Fonte: Reproduzido de Ministério da Saúde, 2022, sob termos e condições da licença *Creative Commons Atribuição Sem Derivações 3.0 Não Adaptada* (<https://creativecommons.org/licenses/by-nd/3.0/deed.en>)

2.4.5 – Diagnóstico

A detecção precoce, por meio de rastreamento mamográfico e exames clínicos, é essencial para o diagnóstico em estágios iniciais, quando as taxas de sobrevivência são mais elevadas. A mamografia tem impacto significativo na redução da mortalidade (TABÁR et al., 2011). Atualização recente do Ministério da Saúde garante via SUS, a realização deste exame em mulheres de 40 a 74 anos (BRASIL, 2025). A ultrassonografia complementa a mamografia, especialmente em mamas densas (BERG et al., 2008). A ressonância magnética mamária, por sua alta sensibilidade, é indicada para rastreamento em populações de alto risco, como portadoras de mutações BRCA1/2 (*breast cancer 1/2*) (SASLOW et al., 2007). Tecnologias

emergentes como tomossíntese mamária digital (mamografia 3D), fotoacústica, tomografia por emissão de pósitrons, elastografia, tomografia de fluorescência e inteligência artificial aplicada à análise de imagens tem mostrado potencial para aumentar a detecção e reduzir falsos positivos (FUNARO; ATAYA; NIELL, 2021). Porém, essas técnicas apresentam limitações, podendo obter resultados falso-positivos ou falso-negativos. Já o diagnóstico histológico do câncer de mama é feito através do estudo anatomopatológico. No entanto, disparidades socioeconômicas e regionais afetam o acesso à detecção precoce, impactando os desfechos (BRAY et al., 2024).

Com ampla variação morfológica, genética e comportamental, o câncer de mama necessita de classificações clínicas, histológicas e moleculares para guiar diagnóstico, prognóstico e conduta terapêutica (RAKHA et al., 2010).

2.4.6 – Classificação histológica

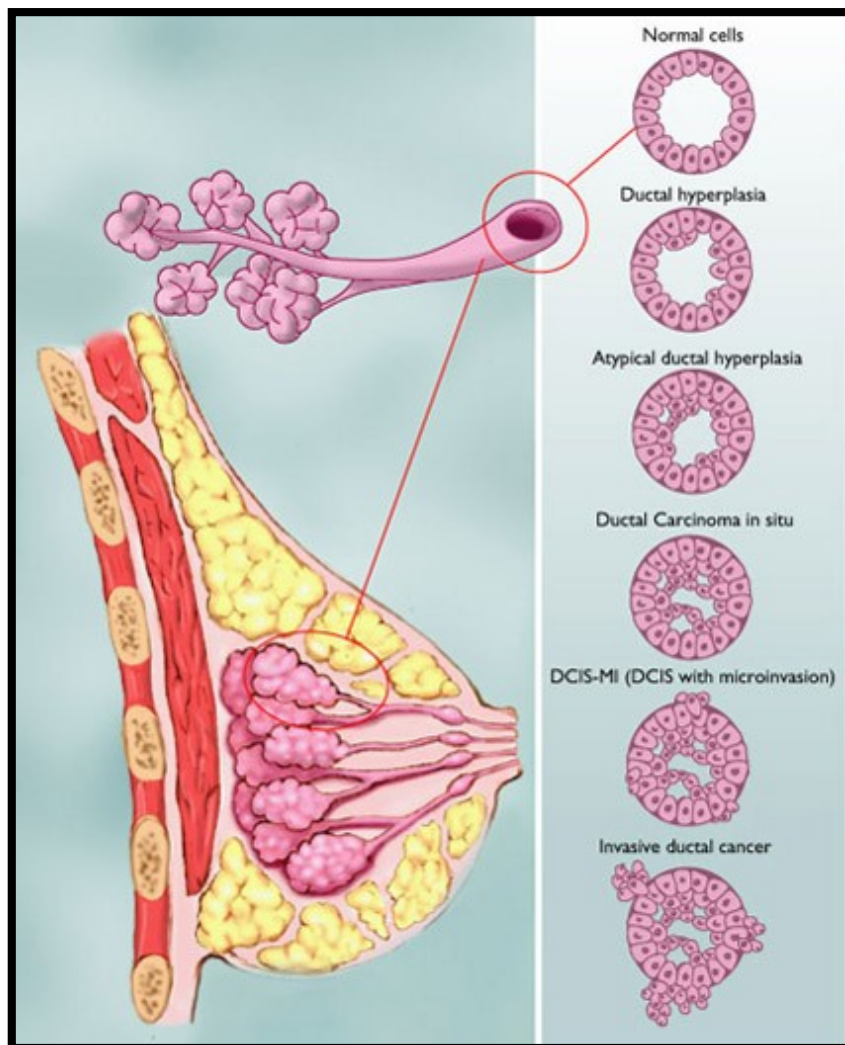
A classificação histológica do câncer de mama é baseada nos padrões morfológicos identificados na biópsia, de acordo com a classificação da OMS (WHO, 2019).

O primeiro tipo histológico que será descrito é o CDIS pois ele é considerado um precursor direto do carcinoma ductal invasivo, sendo classificado como uma lesão de alto risco, embora sua evolução para câncer invasivo nem sempre seja obrigatória (BURSTEIN et al., 2004). É uma neoplasia intraepitelial não invasiva, caracterizada pela proliferação clonal de células malignas restritas ao sistema ductal mamário, sem invasão da membrana basal (WHO, 2019). Representa cerca de 20% a 25% das lesões de mama diagnosticados em programas de rastreamento, especialmente em mulheres assintomáticas (SIZIOPIKOU, 2013). O CDIS foi amplamente identificado com o advento da mamografia de rastreamento, resultando em um aumento significativo na detecção de casos em estágios iniciais (NAROD et al., 2015).

Os tipos histológicos do câncer mais comuns incluem o carcinoma ductal invasivo de tipo não especial, também conhecido como carcinoma ductal invasivo de tipo comum, que representa cerca de 70% a 80% dos casos. É caracterizado por formação de túbulos ou massas sólidas invasivas, originadas dos ductos mamários (RAKHA et al., 2010). A Figura 4 mostra a formação deste tipo de câncer.

Já o carcinoma lobular invasivo é o segundo mais frequente e representa cerca de 10% a 15% dos casos. Origina-se dos lóbulos mamários e apresenta padrão de células pequenas, uniformes, com infiltração linear (CIRIELLO et al., 2015).

Figura 4 – Processo de formação do carcinoma ductal invasivo



Fonte: Reproduzido de Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Albert Einstein, 2017. Licença concedida pela instituição.

Os tipos histológicos menos comuns incluem o carcinoma inflamatório da mama, que constitui uma forma rara (1% a 5% dos casos), mas altamente agressiva, caracterizada por aumento difuso da mama, hiperemia, edema e calor local, simulando uma mastite, sendo responsável por atrasos diagnósticos devido à semelhança clínica com processos benignos (DAWOOD; CRISTOFANILLI, 2011); a condição conhecida como doença de Paget do mamilo, que se inicia nos canais dos seios e se propaga para a pele do mamilo, avançando em seguida para a aréola. É uma condição pouco comum, representando apenas de 1% a 3% de todos os casos de câncer de mama. Normalmente, afeta somente um mamilo e, na maioria das vezes, está associada ao carcinoma ductal *in situ* ou ao carcinoma ductal invasivo (SCARDINA et al., 2022); os sarcomas mamários representam menos de 1% de todos os tipos de câncer de

mama sendo que o angiossarcoma se origina nas células que cobrem os vasos sanguíneos ou linfáticos. Ele pode afetar o tecido do seio ou a pele da região torácica (HE et al., 2023); e os outros tipos especiais incluem, o carcinoma tubular, mucinoso, medular, papilífero e metaplásico, que, embora mais raros, possuem características clínicas e prognósticas distintas (WHO, 2019).

Há também o carcinoma metastático que é capaz de afetar tecidos próximos e se espalhar para diferentes órgãos, mostrando uma ampla gama de características morfológicas e subtipos histológicos com diferentes propriedades clínicas e patológicas. É necessário contar com profissionais altamente qualificados para realizar o diagnóstico por meio de mamografia e ultrassonografia, uma vez que possuem uma aparência indefinida (SHARMA et al., 2010; POLYAK, 2007).

A histologia fornece informações importantes sobre comportamento biológico. Tumores especiais, como os tipos tubular e mucinoso, tendem a ter prognóstico mais favorável (RAKHA et al., 2010).

2.4.7 – Estadiamento

O sistema globalmente adotado para o estadiamento do câncer de mama é o TNM (tumor primário [T], linfonodos regionais [N], metástases à distância [M]), que foi criado em 1959 pelo *American Joint Committee for Cancer* (AJCC). O sistema TNM está sempre sendo atualizado com base nas recomendações de um grupo de especialistas em câncer de mama e de representantes da AJCC. Os estágios atuais são 0, IA, IB, IIA, IIB, IIIA, IIIB, IIIC e IV (GIULIANO et al., 2017).

A classificação do câncer patológico (p) referente ao T inclui, TX onde o tumor primário não pode ser avaliado; T0, não há indícios de tumor primário; Tis (DCIS), carcinoma ductal *in situ* (DCIS); Tis (Paget), doença de Paget do mamilo sem associação com carcinoma invasivo e/ou DCIS no tecido mamário subjacente; T1, tumor com até 20mm na maior dimensão; T2, tumor maior que 20mm, mas igual ou inferior a 50mm na maior dimensão; T3, tumor maior que 50mm na maior dimensão; e T4, tumor de qualquer tamanho que se estende à parede torácica e/ou à pele (com úlceras ou nódulos visíveis) (GIULIANO et al., 2017).

Em relação ao N, existem as seguintes definições, NX, quando não se pode avaliar os linfonodos regionais (por exemplo, se eles não foram removidos para análise patológica ou se já foram removidos anteriormente); N0, quando não se encontra linfonodo regional com metástases identificadas ou quando apenas há células tumorais isoladas; N1, que refere-se a

micro metástases ou à presença de metástases em 1 a 3 linfonodos axilares e/ou linfonodos mamários internos que são clinicamente negativos, mas apresentam micro ou macro metástases identificadas por biópsia do linfonodo sentinela; N2, que indica metástases em 4 a 9 linfonodos axilares ou linfonodos mamários internos ipsilaterais positivos por imagem, mas na ausência de metástases nos linfonodos axilares; N3, que se refere a metástases em 10 ou mais linfonodos axilares, ou em linfonodos infra claviculares (nível III axilar) ou linfonodos mamários internos ipsilaterais positivos por imagem, além de um ou mais linfonodos axilares positivos dos níveis I e II, ou em mais de 3 linfonodos axilares com micro ou macro metástases identificadas por biópsia de linfonodo sentinela em linfonodos mamários internos ipsilaterais que são clinicamente negativos ou em linfonodos supra claviculares ipsilaterais (GIULIANO et al. , 2017).

As classificações de M são, M0, quando não há evidência clínica ou por imagem de metástases; M1, quando são detectadas metástases distantes através de métodos clínicos e de imagem e/ou metástases histologicamente confirmadas que ultrapassam 0,2 mm (GIULIANO et al., 2017).

No que se refere aos cânceres de mama, o sistema semi-quantitativo de avaliação histológica da gravidade da doença, desenvolvido por Bloom e Richardson em 1957 e depois alterado por Elston e Ellis, considera três aspectos: índice de divisão celular, variação no núcleo celular e a presença de formação de tubos. Cada um desses três aspectos recebe uma nota de 1 a 3, sendo que 1 representa a condição mais normal. Com base na pontuação total do tumor, ele é classificado como grau 1, grau 2 ou grau 3. Câncer de mama de grau elevado tende a apresentar recidivas e metástases em estágios iniciais, ao passo que pacientes com tumores de grau baixo costumam ter resultados clínicos mais favoráveis (VUONG et al., 2014; GIULIANO et al., 2017).

2.4.8 – Classificação molecular

Na virada do século XXI, Perou e colaboradores (2000) introduziram a classificação molecular do câncer de mama baseada em perfis de expressão gênica, o que revolucionou a compreensão da biologia da doença. Para entender esta classificação, é importante compreender sobre os receptores hormonais e marcadores moleculares no câncer de mama.

A avaliação do perfil de receptores hormonais e marcadores moleculares é um dos pilares no diagnóstico, prognóstico e escolha terapêutica no câncer de mama (HARBECK et al., 2019). A presença ou ausência de receptor de estrogênio (ER), receptor de progesterona

(PR), *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2* ou receptor epidermal humano 2 (HER2) e o índice proliferativo Ki-67 permitem classificar tumores em subtipos moleculares, orientar o uso de terapias endócrinas ou alvo-dirigidas, além de estimar o risco de progressão e recidiva (COATES et al., 2015). Atualmente, a imuno-histoquímica (IHQ) é o método padrão para detecção desses biomarcadores em amostras de tecido tumoral, sendo recomendada por diretrizes internacionais como da Sociedade Americana de Oncologia Clínica (ASCO/CAP) (ALLISON et al., 2020).

O receptor de estrogênio (ER) é uma proteína nuclear que atua como fator de transcrição, modulando a expressão gênica em resposta à ligação do estrogênio (HARBECK et al., 2019). Cerca de 70% dos cânceres de mama invasivos expressam ER positivamente, sendo classificados como tumores hormônio-dependentes (COATES et al., 2015). A presença de ER está associada a prognóstico mais favorável e é critério fundamental para indicação de terapia endócrina adjuvante, como tamoxifeno (para pré e pós-menopausa) ou inibidores da aromatase (principalmente em pós-menopausa) (BURSTEIN et al., 2019). O status do ER é relatado como proporção de células positivas e intensidade de coloração, geralmente usando o *Allred score* ou o percentual direto. Tumores ER negativos tendem a ser mais agressivos e menos responsivos à hormonioterapia (ALLISON et al., 2020).

O receptor de progesterona (PR) é regulado pela via do receptor de estrogênio e, por isso, é considerado um marcador indireto de funcionalidade da via estrogênica (HARBECK et al., 2019). A expressão de PR reforça a indicação de benefício com a terapia hormonal, sendo que tumores ER positivos, mas PR negativos, podem ter resposta mais limitada e comportamento biológico mais agressivo (COATES et al., 2015). A avaliação do PR também é feita por imuno-histoquímica, e seu status é interpretado em conjunto com o ER para definir estratégias terapêuticas (ALLISON et al., 2020).

O HER2 é um membro da família ErbB. Essa família é composta por quatro genes: ErbB1 ou HER1, ErbB2 ou HER2, ErbB3 ou HER3 e ErbB4 ou HER4 (WOLFF et al., 2023). Trata-se de um proto-oncogene que é um tipo de gene que, quando alterado, pode facilitar o surgimento de câncer. O gene HER2 é responsável pela produção da proteína HER2, que é um receptor situado na membrana das células. O receptor HER2 está ligado ao crescimento das células epiteliais (WOLFF et al., 2023; SLAMON et al., 1987; WOLFF et al., 2023). A presença de certos receptores HER2 nas células é normal, mas a super expressão ou ampliação do gene HER2 resulta de uma mutação nesse gene, levando ao aumento do número de receptores HER2 na membrana celular e conferindo maior potencial de proliferação. Essa situação ocorre em

aproximadamente 15% a 20% dos casos de câncer de mama, sendo associada a um prognóstico ruim, maior agressividade do tumor e um risco elevado de metástases (HARBECK et al., 2019).

O método atual para avaliar o HER2 por meio da imunohistoquímica se fundamenta na intensidade e na proporção de coloração da membrana em um corte de 10%. Tumores que apresentam acima de 10% das células com coloração intensa e completa na membrana são classificados como escore 3+ (HER2 positivo). A coloração da membrana que é fraca a moderada, localizada em mais de 10% das células tumorais, recebe a classificação de escore 2+ (indeterminado) e é posteriormente analisada com hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) ou hibridização *in situ* por cromatografia (CISH), utilizando fluorescência ou cromatografia para a detecção e medição do HER2 nas células cancerígenas. Tumores onde mais de 10% das células apresentam coloração de membrana fraca ou quase invisível são categorizados como escore 1+ (HER2 negativo), enquanto aqueles que não mostram qualquer coloração ou em que a coloração da membrana é incompleta ou fraca em até 10% das células são classificados como escore 0 (NASSAR; POOJA; CHIVUKULA, 2020). Apenas os cânceres que mostram super expressão do HER2 são indicados para tratamento com as medicações direcionadas especificamente para esses receptores (WAKS; WINER, 2019).

Com o advento de terapias alvo-dirigidas, como trastuzumabe (Herceptin), pertuzumabe, T-DM1 e inibidores de tirosina quinase (ex.: lapatinibe), transformou o cenário clínico para pacientes HER2 positivos, melhorando significativamente a sobrevida livre de progressão e a sobrevida global (WOLFF et al., 2023; MODI et al., 2020).

O Índice Proliferativo Ki-67 é uma proteína nuclear associada à proliferação celular, presente em todas as fases do ciclo celular, exceto na fase G0 (DOWSETT et al., 2011). O índice Ki-67 é utilizado como marcador prognóstico e preditivo, especialmente para distinguir subtipos luminais A (Ki-67 baixo) e luminais B (Ki-67 alto), sendo um complemento à avaliação de ER, PR e HER2 (DOWSETT et al., 2011; ALLISON et al., 2020). Altos níveis de Ki-67 indicam taxa de crescimento mais rápida, maior risco de recidiva e, em alguns contextos, podem justificar estratégias terapêuticas mais agressivas (COATES et al., 2015). Contudo, ainda há desafios na padronização interlaboratorial da interpretação do Ki-67, o que limita seu uso isolado como fator decisivo (ALLISON et al., 2020).

A combinação de ER, PR, HER2 e Ki-67 possibilita classificar os tumores de mama em quatro subtipos moleculares principais do câncer de mama, caracterizados e tipificados como luminal A, luminal B, HER2 enriquecido e triplo negativo/basal-like, em que apresentam

diferenças em relação à sua incidência, fatores de risco e com implicações diretas no prognóstico e na escolha terapêutica (PRAT et al., 2015; HARBECK et al., 2019).

2.4.8.1 – Luminal A

O luminal A é o subtipo mais comum, representando cerca de 40% a 50% dos cânceres de mama (HARBECK et al., 2019). É definido por ER positivo, PR positivo, HER2 negativo, Ki-67 baixo (<14%-20%). Tumores luminal A apresentam menor grau nuclear, menor taxa proliferativa e prognóstico favorável, com altas taxas de sobrevida global e menor risco de recidiva (PEROU et al., 2000; COATES et al., 2015; GOLDHIRSCH et al., 2013). O tratamento de escolha é predominantemente terapia endócrina (ex.: tamoxifeno ou inibidores da aromatase), sendo a quimioterapia indicada apenas em casos de maior risco clínico ou anatômico (HARBECK et al., 2019).

2.4.8.2 – Luminal B

O luminal B corresponde a 10% a 20% dos casos e apresenta características mais agressivas que o luminal A (PEROU et al., 2000; COATES et al., 2015). É definido por ER positivo, PR baixo ou ausente, Ki-67 elevado (>20%) e pode ser HER2 negativo ou positivo. Esses tumores têm maior taxa de proliferação, grau histológico mais alto e pior prognóstico em comparação com o luminal A (HARBECK et al., 2019). O tratamento envolve terapia endócrina associada frequentemente à quimioterapia, além de terapia anti-HER2 quando o HER2 é co-expresso (COATES et al., 2015).

2.4.8.3 – HER2 enriquecido

O subtipo HER2 enriquecido representa cerca de 15% a 20% dos cânceres de mama (PEROU et al., 2000; WOLFF et al., 2023). É caracterizado por ER e PR negativos, HER2 super expresso/amplificado. Antes do advento das terapias anti-HER2, esses tumores estavam associados a alto grau histológico, alta taxa de metástases e pior prognóstico (SLAMON et al., 1987). No entanto, o desenvolvimento de anticorpos monoclonais como trastuzumabe, pertuzumabe e drogas conjugadas como T-DM1 transformou o cenário clínico, resultando em melhoras significativas na sobrevida livre de progressão e na sobrevida global (MODI et al., 2020; SWAIN et al., 2015). O tratamento padrão combina quimioterapia e bloqueio HER2, podendo incluir dupla inibição HER2 em casos avançados (WOLFF et al., 2023).

2.4.8.4 – Triplo negativo

O câncer de mama triplo negativo (TNBC) (Basal-like) corresponde de 10% a 15% dos casos sendo definido pela ausência de ER, PR e HER2 (PEROU et al., 2000; BIANCHINI et al., 2016). Molecularmente, muitos tumores triplos negativos apresentam características do subtipo basal-like, com expressão de citoqueratinas basais (citoqueratinas 5 e 6 - CK5/6; citoqueratina 14 - CK14) e Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR) (BIANCHINI et al., 2016). Esse subtipo é associado a alto grau nuclear, proliferação celular elevada e maior risco de metástases precoces, especialmente para pulmão e sistema nervoso central. Por não expressarem alvos terapêuticos tradicionais, o tratamento baseia-se predominantemente em quimioterapia citotóxica (HARBECK et al., 2019). Avanços incluem o uso de inibidores de Poly (ADP-ribose) polimerase (PARP) em portadoras de mutações BRCA1/2 e imunoterapia com inibidores de checkpoint imunológico (ex.: atezolizumabe) para subgrupos com expressão de PD-L1 (ligante 1 da morte programada-1) (BIANCHINI et al., 2016; SCHMID et al., 2018).

2.4.8.5 – Demais subtipos

Além dos subtipos clássicos, estudos genômicos como o METABRIC (CURTIS et al., 2012) e o *The Cancer Genome Atlas* (TCGA) (THE CANCER GENOME ATLAS NETWORK, 2012), identificaram novos subgrupos com relevância clínica potencial. Por exemplo, subdivisões do TNBC em *claudina-low* e subtipos imunomodulatórios, que podem responder diferencialmente à imunoterapia (LEHMANN et al., 2011). A subtipagem molecular fundamenta a decisão terapêutica, orienta a estratificação prognóstica e promove uma abordagem individualizada, reforçando o conceito de medicina de precisão (HARBECK et al., 2019). Além disso, novos estudos e técnicas como painéis multigênicos (ex.: Oncotype DX, MammaPrint) vêm refinando ainda mais a estratificação de risco, especialmente nos subtipos luminais, ajudando a definir quando a quimioterapia é ou não necessária (COATES et al., 2015).

A Tabela 1 mostra os subtipos moleculares de câncer de mama de acordo com o perfil imunoistoquímico.

A classificação molecular tornou-se essencial para a estratificação terapêutica, sendo integrada à prática clínica via IHQ para detecção de ER, PR, HER2 e Ki-67 como proxies dos perfis de expressão gênica (HARBECK et al., 2019). A integração entre dados histológicos, moleculares e clínicos permite uma abordagem personalizada. Por exemplo, tumores HER2 positivos são candidatos a terapias alvo, enquanto pacientes com TNBC podem ser elegíveis

para esquemas quimioterápicos intensificados ou protocolos com imunoterapia anti-PD-L1 (CORTES et al., 2020). Além disso, a pesquisa contínua em biomarcadores emergentes, como DNA tumoral circulante, exossomos e miRNAs, pode futuramente refinar ainda mais a classificação e o monitoramento terapêutico (WAN et al., 2017; MEO et al., 2017). Portanto, compreender os tipos histológicos e subtipos moleculares do câncer de mama é indispensável para individualizar o tratamento, prever resposta terapêutica e estimar prognóstico, refletindo os avanços da oncologia de precisão na prática clínica contemporânea.

Tabela 1 - Subtipos moleculares do câncer de mama.

Subtipo Molecular	ER/PR	HER2	Ki-67	Prevalência (%)	Prognóstico
Luminal A	ER+ / PR+	HER2-	Baixo (<14%-20%)	40%-50%	Favorável
Luminal B	ER+ / PR+ ou PR baixo	HER2- ou +	Alto (>20%)	10%-20%	Intermediário a desfavorável
HER2-Enriquecido	ER- / PR-	HER2+	Elevado	15%-20%	Desfavorável (com tratamento dirigido melhora muito)
Triplo Negativo	ER-/PR-	HER2-	Muito elevado	10%-15%	Desfavorável

2.4.9 – Tratamento

O tratamento do câncer de mama é multimodal, sendo individualizado conforme estágio clínico, subtipo molecular, perfil genético, estado geral da paciente e preferências pessoais (HARBECK et al., 2019; WAKS; WINER, 2019). A cirurgia é a principal modalidade curativa para doença localizada. As opções incluem a cirurgia conservadora da mama, como a setorectomia ou quadrantectomia, indicada quando há possibilidade de margens livres e bom resultado estético (FISHER et al., 2002); a mastectomia total, recomendada em casos de tumores extensos, multicêntricos, carcinoma inflamatório ou recidivas locais (ASBrS, 2024); e o esvaziamento axilar ou biópsia do linfonodo sentinela, que são realizados para estadiamento linfático, sendo este último preferido para reduzir morbidades como linfedema (GIULIANO et al., 2011).

A radioterapia é indicada para reduzir risco de recidiva local, sendo obrigatória após cirurgia conservadora. Também pode ser recomendada após mastectomia em casos com linfonodos comprometidos ou margens próximas (EARLY BREAST CANCER TRIALISTS' COLLABORATIVE GROUP, 2005).

Já as terapias sistêmicas incluem a hormonioterapia, indicada para tumores ER positivo / PR positivo, utilizando tamoxifeno (pré-menopausa) ou inibidores de aromatase (pós-menopausa) (BURSTEIN et al., 2019); a quimioterapia que é aplicada no contexto neoadjuvante para reduzir o tamanho tumoral pré-cirurgia ou adjuvante para eliminar micrometástases ou doença metastática, sendo esta modalidade de tratamento definido pelo subtipo, estágio e comorbidades (HARBECK et al., 2019); a terapias-alvo para tumores HER2 positivo, que são empregadas drogas como trastuzumabe, pertuzumabe, T-DM1 e, trastuzumabe deruxtecano (MODI et al., 2020); e a imunoterapia onde pacientes com TNBC com expressão de PD-L1 podem se beneficiar de imunoterapia com inibidores de checkpoint, como atezolizumabe ou pembrolizumabe (SCHMID et al., 2018; CORTES et al., 2020).

Os tratamentos de suporte incluem o manejo da dor, o controle de efeitos adversos, o suporte psicossocial e cuidados paliativos, visando qualidade de vida (REICH, 2008). Além dos desafios biomédicos, o câncer de mama impõe impacto significativo na saúde mental, qualidade de vida e reinserção social das mulheres acometidas. O diagnóstico pode desencadear ansiedade, depressão e alterações na autoimagem corporal (FANN et al., 2008). Intervenções psicossociais, suporte familiar e grupos de apoio são estratégias essenciais para o enfrentamento da doença e adesão ao tratamento (KOCH et al., 2014). O acompanhamento multiprofissional, envolvendo equipe de enfermagem, psicólogos, nutricionistas e fisioterapeutas, é determinante para minimizar efeitos colaterais, promover reabilitação física e psicossocial e melhorar os indicadores de qualidade de vida (REICH, 2008).

Diante da relevância epidemiológica e clínica do câncer de mama, amplia-se continuamente a busca por métodos diagnósticos menos invasivos, capazes de detectar precocemente alterações moleculares e bioquímicas associadas ao desenvolvimento tumoral. Nesse contexto, o estudo de fluidos biológicos, como soro e saliva, tem se destacado como estratégia promissora, pois tais matrizes biológicas concentram diversas moléculas que refletem alterações metabólicas, inflamatórias e genéticas relacionadas ao câncer de mama (MEO et al., 2017; HARBECK et al., 2019).

2.5 – Fluidos biológicos

2.5.1 – Soro

O sangue é um fluido biológico de composição complexa, essencial para o transporte de oxigênio, nutrientes, hormônios e produtos metabólicos em todo o organismo. É formado

por uma parte celular, composto de eritrócitos, leucócitos e plaquetas, suspensa em um meio líquido denominado plasma, que constitui aproximadamente 55% do volume sanguíneo total (BISHOP, 2020).

A coleta de sangue é um dos procedimentos menos invasivos mais frequentes na área da saúde (WEBSTER; BELL-SYER; FOXLEE, 2015), apresentando algumas vantagens como a forma comumente empregada na prática médica que possibilita um armazenamento simples, tem custo reduzido e garante segurança tanto para o profissional quanto para o paciente (VIVAS, 2008). Quando o sangue é submetido à coagulação *in vitro*, ocorre a formação de um coágulo de fibrina, que retém as células sanguíneas. O líquido que se separa do coágulo é denominado soro, que difere do plasma justamente pela ausência de fatores de coagulação, principalmente o fibrinogênio (RIFAI; HORVATH; WITTWER, 2019), embora discrepâncias modestas na distribuição relativa de alguns compostos entre soro e plasma também tenham sido relatadas (BEHESHTI; WESSELS; ECKFELDT, 1994).

O soro sanguíneo contém uma ampla variedade de moléculas biologicamente ativas, incluindo proteínas plasmáticas (imunoglobulinas, albumina, hormônios), metabólitos, lipídios, íons e biomarcadores circulantes, como fragmentos de DNA tumoral circulante, RNAs (ácido ribonucleico) não codificantes (ex.: miRNAs), exossomos e proteínas específicas associadas a processos patológicos (MEO et al., 2017; DIAZ; BARDELLI, 2014). Ele atua como o principal meio de transporte para pequenas substâncias dentro do organismo. Esse fluido biológico não só é essencial para o deslocamento de gases em solução, nutrientes, hormônios e produtos de degradação, mas também é crucial para o controle do potencial hidrogeniônico (pH) e da composição iônica dos líquidos intersticiais, para a limitação da perda de fluidos em áreas lesionadas, para a proteção contra toxinas e microrganismos, além de contribuir para a manutenção da temperatura do corpo (MARTINI, 2006).

O soro também possibilita a avaliação antecipada de modificações bioquímicas em doenças e abre espaço para o desenvolvimento de biomarcadores preditivos (ZHANG; SUN; WANG, 2012). Já foi relatado que o soro possui grande potencial para diagnósticos em cânceres, como, câncer de mama (VARGAS-OBIEITA et al., 2016; ELMI et al., 2017; SITNIKOVA et al., 2020), câncer do colo do útero (GONZÁLEZ-SOLÍS et al., 2013), câncer gástrico (TEH et al., 2010) e tumor cerebral (HANDS et al., 2016).

No contexto do câncer de mama, o soro é uma das matrizes biológicas mais utilizadas para pesquisas de biomarcadores, devido à facilidade de coleta, armazenamento e análise, além de permitir monitorar alterações sistêmicas associadas à presença de tumores, resposta

terapêutica e progressão da doença (HARBECK et al., 2019; ALLIN; NORDESTGAARD, 2011). Métodos de biopsia líquida, como a detecção de DNA tumoral circulante, miRNAs e proteínas inflamatórias, têm se mostrado promissores como ferramentas complementares ao rastreamento por imagem e à avaliação prognóstica (DIAZ, BARDELLI, 2014; MEO et al., 2017).

Portanto, o soro sanguíneo é um recurso valioso para estudos moleculares e bioquímicos aplicados à oncologia, especialmente quando se busca desenvolver estratégias menos invasivas e mais sensíveis para diagnóstico precoce, estratificação de risco e monitoramento de recidiva.

2.5.2 – Saliva

A saliva é um fluido biológico complexo produzida pelas glândulas salivares. Na boca, existem dois tipos principais de glândulas salivares: as glândulas menores, que somam cerca de 600 e estão distribuídas pela cavidade oral e as glândulas maiores, que incluem a submandibular, sublingual e parótida. A glândula submandibular é localizada abaixo da mandíbula (maxilar inferior), no assoalho da boca, sendo uma das maiores glândulas salivares, com uma parte superficial no pescoço (trígono submandibular) e uma parte profunda que libera saliva por um ducto (Ducto de Wharton) sob a língua. A glândula sublingual está localizada no assoalho da boca, logo abaixo da língua e acima do músculo milo-hióideo, encaixada na mandíbula, sendo uma das três principais glândulas salivares, responsável por produzir saliva que lubrifica a boca e auxilia na digestão. Já a glândula parótida está localizada logo abaixo e à frente de cada orelha, na região lateral da face, sendo a maior das glândulas salivares e responsável por produzir saliva para auxiliar na digestão. Ela se estende do osso da mandíbula até a parte posterior da orelha, com uma parte superficial e outra profunda (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014).

A composição da saliva varia conforme a glândula. A saliva das glândulas sublinguais, submandibulares e das pequenas glândulas mucosas é rica em mucinas e apresenta apenas uma quantidade reduzida de amilase. Em contrapartida, a saliva da glândula parótida tem um alto teor de amilase (20%), uma quantidade significativa de proteínas ricas em prolina (60%) e não contém mucinas (PINK et al., 2009; PFAFFE et al., 2011).

A produção de saliva é iniciada pela ativação do sistema nervoso autônomo, através de neurotransmissores tanto simpáticos quanto parassimpáticos. A ativação parassimpática é predominantemente impulsionada pelo neurotransmissor acetilcolina, que se liga principalmente aos receptores muscarínicos M3 e M1, resultando em um aumento considerável

do líquido salivar devido ao aumento do fluxo sanguíneo nas glândulas. Em contraste, a ativação simpática é em grande parte mediada pela noradrenalina, que atua principalmente nos receptores beta-adrenérgicos, promovendo uma maior exocitose de proteínas, a contração das células mioepiteliais e regulando o fluxo sanguíneo nas glândulas (PROCTOR; CARPENTER, 2007; NATER et al., 2006; EMMELIN, 1987).

A coleta de saliva oferece vantagens éticas e práticas: é não invasiva, é indolor, de baixo custo e pode ser realizada repetidamente (SPIELMANN; WONG, 2011). No entanto, a padronização do método de coleta é crucial, pois fatores como tipo de saliva (não estimulada x estimulada), horário, postura e estímulos podem alterar volume e composição bioquímica (NAVAZESH, 1993).

A saliva não estimulada, também chamada de fluxo basal, é aquela produzida sob condições de repouso, sem aplicação de estímulos físicos, gustativos ou mecânicos. É o principal indicador da função basal das glândulas salivares (NAVAZESH, 1993). O método padrão de coleta começa ao solicitar que o indivíduo permaneça em jejum mínimo de 90 minutos (idealmente 2 horas), sem ingestão de alimentos, bebidas ou escovação dental (NAVAZESH, 1993). O participante deve sentar-se em posição ereta, cabeça levemente inclinada para frente, evitando falar ou engolir excessivamente. A coleta é feita por método de “cuspe”, onde a saliva se acumula na cavidade oral e é expelida periodicamente (ex.: a cada 60 segundos) em tubo estéril, geralmente durante 5 a 10 minutos (NAVAZESH, 1993). A taxa de fluxo normal da saliva não estimulada em adultos saudáveis é de aproximadamente 0,3 a 0,5 mL/min, variando com fatores como idade, hidratação e medicações (NAVAZESH; KUMAR, 2008). A maioria das pesquisas que analisam biomarcadores na saliva utilizam protocolos de coleta de saliva não estimulada, pois melhor reflete as condições fisiológicas basais sem interferência de estímulos externos.

A saliva estimulada é coletada após aplicação de estímulos que aumentam a produção salivar, como mastigação (parafina, goma sem açúcar), estímulo gustativo (soluções ácidas como ácido cítrico a 2%) ou até estímulo mecânico (massagem glandular) (NAVAZESH, 1993). O método comum de coleta começa ao solicitar que o participante mastigue uma tira de parafina estéril (cerca de 1g) ou goma sem açúcar por um tempo determinado (5–10 minutos), enquanto continuamente expulsa a saliva para um recipiente graduado. A taxa de fluxo é normalmente 3 a 5 vezes maior do que na saliva não estimulada, atingindo 1 a 3 mL/min (NAVAZESH, 1993). A coleta estimulada é indicada quando o objetivo é investigar capacidade

funcional máxima das glândulas, glândulas específicas (ex.: parótida) ou quando há baixa produção de saliva basal (NAVAZESH, 1993).

A saliva tem várias funções, incluindo a lubrificação da boca, apoio na ingestão e digestão dos alimentos, mediação das percepções gustativas, colaboração na recuperação de tecidos moles e proteção da cavidade oral através da defesa imunológica local que ocorre por meio das proteínas presentes na saliva, que possuem características antimicrobianas, imunomoduladoras e anti-inflamatórias (SPIELMANN, WONG, 2011; PINK et al., 2009; ABRAO et al., 2016).

Este fluido biológico é formada por 98% de água e 2% de outros elementos essenciais, incluindo eletrólitos (sódio, potássio, cálcio, magnésio, bicarbonatos e fosfatos), muco (mucopolissacarídeos e glicoproteínas), substâncias com propriedades antissépticas (peróxido de hidrogênio, Imunoglobulina A), várias enzimas (alfa-amilase, lisozimas, lipase lingual), proteínas, peptídeos, ácidos nucleicos, hormônios, imunoglobulinas, metabólitos, partes de DNA, RNA e vesículas extracelulares originadas de diversas fontes locais e sistêmicas (LEE; WONG, 2009). A maior parte dos compostos orgânicos contidos na saliva é gerada localmente nas glândulas salivares, no entanto, algumas moléculas entram na saliva através do sangue por vias transcelulares, como a difusão passiva de moléculas lipofílicas, incluindo hormônios esteroides, e o transporte ativo de proteínas por meio de ligações receptor-ligante; ou por vias paracelulares, como a ultrafiltração extracelular (PFAFFE et al., 2011; WANG et al., 2016).

Vários fatores podem impactar tanto o fluxo quanto a composição da saliva, resultando em uma grande variação entre diferentes pessoas e até mesmo na mesma pessoa em diferentes circunstâncias. Os principais aspectos que afetam a produção de saliva são o nível de hidratação, o ciclo circadiano e o tipo de estímulo (HUMPHREY; WILLIAMSON, 2001). Em média, a quantidade de saliva produzida diariamente varia de 800 a 1000 mL, enquanto o fluxo salivar em repouso é considerado normal entre 0,25 a 0,35 mL/min, sendo classificado como baixo se ficar na faixa de 0,1 a 0,25 mL/min. No que diz respeito à saliva que é estimulada mecanicamente, um valor normal fica entre 1,0 a 3,0 mL/min, e é considerado baixo se estiver entre 0,7 e 1,0 mL/min (MANDEL, 1990). A saliva é influenciada por substâncias nitrogenadas, como amônia e ureia, além de bicarbonatos e fosfatos, que afetam sua capacidade de tamponamento e pH. O pH da saliva geralmente varia de 6 a 7, indicando que ela possui um caráter levemente ácido (AFRAMIAN; DAVIDOWITZ; BENOLIEL, 2006).

Nas últimas décadas, a saliva se tornou uma matriz promissora para diagnósticos devido à sua facilidade de coleta, armazenamento e manuseio. Além disso, a coleta é bem aceita pelas

pacientes, não necessita de profissionais especializados ou de equipamentos complexos para a sua obtenção (SPIELMANN, WONG, 2011; YAKOB et al., 2014). Ela reflete o estado de saúde do corpo, abrangendo aspectos emocionais e alterações endócrinas, nutricionais e metabólicas. Biomoléculas que circulam, resultantes de processos patológicos, podem chegar até as glândulas salivares, alterando assim a composição da saliva. Portanto, os biomarcadores presentes na saliva podem ser utilizados para a detecção precoce de diversas doenças, tanto orais quanto sistêmicas, como, cáries, doenças periodontais, câncer na boca, diabetes, doenças do coração, autoimunes e renais, câncer de pâncreas, mama, pulmão e próstata (ABRAO et al., 2016; WANG et al., 2016).

Assim, a conexão entre doenças fisiológicas e a função das glândulas salivares indica que a saliva pode ser utilizada como um recurso para diagnóstico, oferecendo várias vantagens em termos bioquímicos e logísticos em comparação com a análise de outros fluidos corporais. A coleta de saliva é um processo fácil, rápido e seguro; sua armazenagem é prática; é um método não invasivo; pode ser coletada várias vezes sem causar desconforto, risco ou dor ao paciente (ABRAO et al., 2016).

Do ponto de vista oncológico, estudos têm explorado o potencial da saliva como fonte de biomarcadores moleculares para detecção de câncer, inclusive o câncer de mama (FERREIRA et al., 2020; BEL'SKAYA et al., 2022; STRECKFUS et al., 2008). Pesquisas demonstram que alterações em perfis de proteínas, metabólitos e RNAs presentes na saliva podem refletir estados patológicos sistêmicos, já que moléculas liberadas pelas células tumorais podem alcançar a cavidade oral por mecanismos como ultrafiltração, transporte ativo ou vesículas extracelulares (LEE; WONG, 2009; YAKOB et al., 2014).

Estudos validam a detecção de proteínas inflamatórias, fragmentos de DNA tumoral e perfis de miRNAs específicos em amostras de saliva de pacientes com câncer de mama, sugerindo seu uso como biopsia líquida complementar ao sangue para diagnóstico precoce e monitoramento da doença (YAKOB et al., 2014). Além disso, a saliva apresenta vantagens logísticas em triagens populacionais de grande escala, por ser um fluido de coleta não invasivo adequado para monitoramento longitudinal (SPIELMANN, WONG, 2011). Assim, o uso da saliva como fluido biológico diagnóstico, é uma fronteira inovadora na oncologia de precisão, potencializando estratégias de rastreamento menos invasivas, acessíveis e com maior aceitação pelas pacientes, especialmente quando integrada a tecnologias moleculares avançadas.

A crescente utilização de fluidos biológicos como soro e saliva na investigação de biomarcadores reflete o avanço de tecnologias analíticas capazes de explorar, de forma não

invasiva e precisa, alterações bioquímicas associadas ao câncer de mama. Nesse contexto, destaca-se o ATR-FTIR, uma estratégia promissora para detecção precoce, monitoramento de tratamento e estratificação de risco, fortalecendo o conceito de biópsia líquida aliada à espectroscopia como ferramenta complementar na oncologia de precisão.

2.6 – Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A radiação infravermelha é um grupo de ondas eletromagnéticas com comprimentos de onda maiores que a radiação visível, invisíveis ao olho humano. A espectroscopia no infravermelho (IV), uma técnica pertencente à classe das espectroscopias vibracionais, baseia-se na análise das vibrações das ligações químicas presentes em uma molécula. Quando a radiação IV atravessa uma amostra, parte dessa energia é absorvida, dependendo das características moleculares do material analisado. Cada pico observado no espectro resultante, reflete uma vibração específica de determinados grupos químicos da molécula, funcionando como uma espécie de assinatura molecular exclusiva da amostra (STUART, 2004).

Essa radiação provoca diferentes tipos de vibrações nos átomos constituintes das moléculas, como estiramento (mudança no comprimento da ligação) ou flexão (alteração no ângulo da ligação). Essas vibrações podem ser simétricas ou assimétricas, e incluem movimentos como tesoura, balanço, torção e abanar (STUART, 2004; ELLIS; GOODACRE, 2006). Para que uma molécula seja considerada ativa na região do infravermelho, é necessário que haja variação em seu momento de dipolo durante a vibração.

O espectro obtido é comumente representado em números de onda (cm^{-1}), que são o inverso do comprimento de onda, sendo esta uma convenção amplamente utilizada em análises espectroscópicas (SCHULTZ, 2002; ELLIS; GOODACRE, 2006; MOVASAGHI; REHMAN; REHMAN, 2008; CLEMENS et al., 2014). Essas informações espectrais podem ser diretamente relacionadas à composição bioquímica da amostra, permitindo uma análise quantitativa e qualitativa precisa de substâncias biológicas.

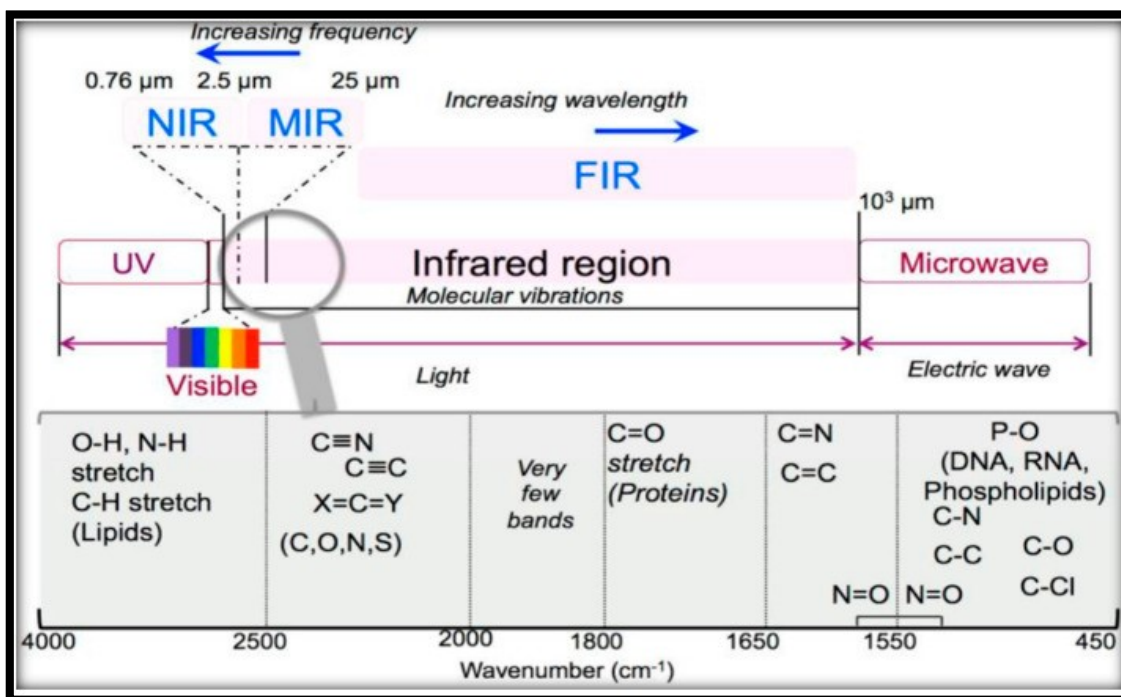
O espectro infravermelho é tradicionalmente segmentado em três regiões: o infravermelho próximo (NIR), de 13.000 a 4.000 cm^{-1} ; o infravermelho médio (MIR), que vai de 4.000 a 400 cm^{-1} ; e o infravermelho distante (FIR), entre 400 e 10 cm^{-1} . A faixa do MIR é a mais explorada em estudos envolvendo materiais biológicos, por conter regiões associadas às vibrações fundamentais de diversas ligações químicas. No entanto, as regiões NIR e FIR também possuem aplicações específicas e são úteis na investigação de determinadas

propriedades de alguns compostos (STUART, 2004; BARTH, 2007; BUNACIU; HOANG; ABOUL-ENEIN, 2015).

A região do MIR, particularmente entre 4.000 e 400 cm^{-1} , pode ser subdividida em quatro faixas principais: (1) a região de estiramento X–H (4.000 – 2.500 cm^{-1}), associada às vibrações de O–H, C–H e N–H; (2) a zona das ligações triplas (2.500 – 2.000 cm^{-1}), onde ocorrem absorções de $\text{C}\equiv\text{C}$ e $\text{C}\equiv\text{N}$; (3) a região das duplas ligações (2.000 – 1.550 cm^{-1}), relacionada a $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{O}$ e $\text{C}=\text{N}$; e (4) a região de impressão digital (1.550 – 450 cm^{-1}), que concentra modos vibracionais característicos de flexão e das estruturas esqueléticas moleculares, sendo fundamental para a identificação precisa de compostos (STUART, 2004).

A Figura 5 ilustra o espectro infravermelho com destaque para as faixas principais da região de infravermelho médio (MIR).

Figura 5 – Espectro infravermelho com destaque para a região de infravermelho médio (MIR)



Legenda: NIR (*Near infrared* - infravermelho próximo - 13000 a 4000 cm^{-1}); MIR (*Mid infrared* - infravermelho médio - 4000 a 400 cm^{-1}); FIR (*Far infrared* - infravermelho distante - 400 a 10 cm^{-1})

Fonte: Reproduzido de BALAN et al., 2019, MDPI, sob termos e condições da licença *Creative Commons Atribuição* (CC BY) (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

A espectroscopia de infravermelho permite a obtenção de informações estruturais detalhadas a partir das interações entre a radiação e as moléculas da amostra, sendo uma ferramenta poderosa e amplamente empregada em diversas áreas da ciência, especialmente na análise de substâncias orgânicas e sistemas biológicos.

A Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica vibracional que se concentra na análise da absorção de radiação eletromagnética na região do infravermelho médio (MIR), que como dito anteriormente, abrange o intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} (CHAN; KAZARIAN, 2016). Esse método é fundamentado no uso de interferência entre dois feixes de luz para gerar um sinal chamado interferograma. A partir desse sinal, é possível extrair informações espectrais por meio de transformações matemáticas específicas, permitindo a construção do espectro infravermelho final (BARTH, 2007; BEEKES; LASCH; NAUMANN, 2007).

O interferômetro mais comum na espectrometria FTIR é o de Michelson, que contém espelhos fixo e móvel. Ele utiliza um divisor de feixe (beamsplitter), que é um espelho parcialmente refletivo, para dividir a radiação infravermelha em dois caminhos perpendiculares. Um dos feixes é direcionado ao espelho fixo, enquanto o outro segue em direção ao espelho móvel. Após serem refletidos, ambos os feixes se reencontram e são direcionados à amostra a ser analisada (STUART, 2004; AL-SAEED; KHALIL, 2012). Após amplificação e filtragem do sinal para eliminar componentes de alta frequência, os dados são digitalizados e processados por meio de transformada de Fourier, convertendo o interferograma em um espectro de absorção (STUART, 2004). Na prática, o espectrômetro realiza esse processo de transformação tanto no nível óptico (interferômetro) quanto computacional.

A coleta dos espectros FTIR pode ser feita por diferentes configurações experimentais, sendo as mais usuais a transmissão, transflecção e reflexão total atenuada (ATR). No modo de transmissão, a radiação infravermelha atravessa a amostra apoiada em um substrato. Já na transflecção, a radiação passa pela amostra, é refletida pelo substrato e retorna, formando uma onda estacionária que pode causar distorções espectrais sem relação com a composição bioquímica do material (BUNACIU; HOANG; ABOUL-ENEIN et al., 2015; LIMA_a et al., 2015).

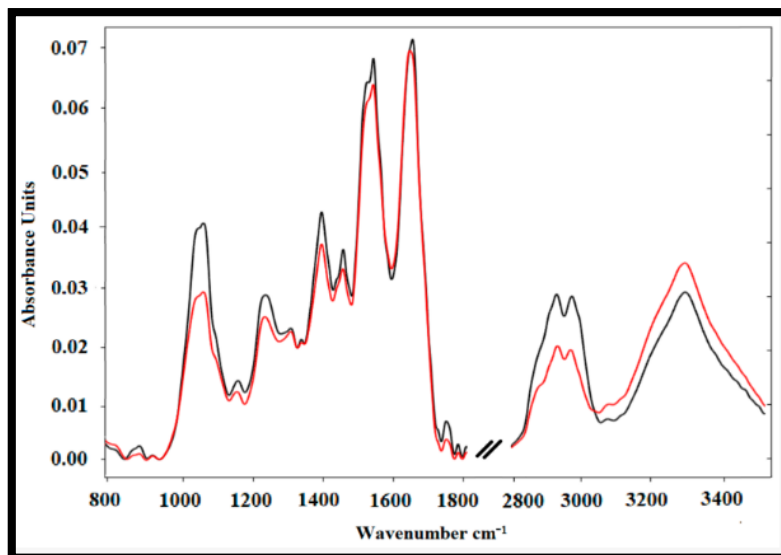
Entre essas abordagens, o modo ATR destaca-se por sua eficiência e simplicidade. Baseando-se na reflexão interna total, esse método utiliza cristais com alto índice de refração, como seleneto de zinco, diamante, brometo de talo iodeto ou germânio que, ao entrarem em contato com a amostra, permitem a penetração da radiação na forma de uma onda evanescente.

Essa onda é parcialmente absorvida pela amostra e retorna ao detector com informações químicas específicas. O ATR-FTIR possibilita a análise de sólidos, líquidos e gases, inclusive amostras aquosas, sem necessidade de preparação prévia e inserindo diretamente no cristal. Além disso, proporciona alto sinal em relação ao ruído e evita distorções comuns nos modos de transmissão e transflecção (ELLIS; GOODACRE, 2006; LANE; SEO, 2012; CLEMENS et al., 2014).

Uma das principais limitações da espectroscopia FTIR convencional está associada à sua baixa capacidade de penetração da luz infravermelha nos tecidos, restringindo a análise bioquímica a camadas superficiais, com profundidade de apenas algumas dezenas de micrômetros (MOSTAÇO-GUIDOLIN et al., 2009). Além disso, essa técnica, quando aplicada no modo de transmissão e com ângulo de incidência ortogonal entre a fonte emissora e a amostra, apresenta dificuldades quanto à padronização da espessura do espaçador em amostras líquidas, comprometendo a reprodutibilidade (GRDADOLNIK, 2002). Para contornar essas limitações, a técnica ATR-FTIR tem sido empregada como alternativa eficaz. A radiação infravermelha atravessa o cristal de alto índice de refração (geralmente posicionado com ângulo de 45°), onde sofre múltiplas reflexões internas antes de ser direcionada ao detector (GRDADOLNIK, 2002; JELLE et al., 2012). Apesar de sua profundidade de penetração ser mais rasa em relação à FTIR convencional (cerca de 200 nanômetros), essa abordagem é particularmente adequada para amostras espessas e de alta absorção, que não permitem a passagem eficiente da radiação infravermelha (GRDADOLNIK, 2002).

Nas técnicas espectroscópicas, a energia e a frequência da radiação eletromagnética são representadas pelo comprimento de onda. Quando a radiação incidente é absorvida, essa absorção decorre de interações intermoleculares. Durante os movimentos dos átomos dentro de uma molécula, como rotações e vibrações, há uma redistribuição da carga elétrica causada pelas variações no momento dipolar. Essa alteração gera um campo elétrico que interage com o campo da radiação incidente, tornando a molécula ativa na região do infravermelho. Esses movimentos vibracionais podem ser detectados e quantificados, permitindo a identificação dos grupos funcionais responsáveis pelas regiões de absorção. Como resultado dessa interação, obtém-se um espectro específico para cada molécula (Figura 6), considerado como a “impressão digital” no infravermelho da substância analisada (CLEMENS et al., 2014; BUNACIU; HOANG; ABOUL-ENEIN, 2017).

Figura 6 – Exemplo de espectro de ATR-FTIR



Legenda: Espectros FTIR médios normalizados de amostras de soro: controle (preto) e Precursor B da Leucemia Linfoblástica Aguda (vermelho). Os espectros abrangem a faixa de 800–3500 cm^{-1} .

Fonte: Reproduzido de CHABER et al., 2021, MDPI, sob termos e condições da licença *Creative Commons Atribuição* (CC BY) (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Após a aquisição dos espectros, diferentes estratégias matemáticas podem ser empregadas para refinar os dados e realizar análises quantitativas. Uma prática comum é a correção da linha de base, traçando-se uma linha conectando os pontos de menor absorbância e, em seguida, calculando-se a altura do pico em relação a essa linha (STUART, 2004). A aplicação de derivadas, especialmente a segunda, também é amplamente utilizada, pois ajuda a separar bandas sobrepostas, atenuar o ruído de fundo e destacar os sinais moleculares característicos (LEWIS et al., 2010; RIEPPO et al., 2012; ZELIG et al., 2015). E para suavizar os dados sem perder a forma dos picos, pode-se empregar o método de Savitzky-Golay. Essa técnica aplica uma regressão polinomial local sobre intervalos específicos dos dados, permitindo a obtenção de valores suavizados ponto a ponto. Os parâmetros ajustáveis nesse processo incluem a ordem do polinômio e o número de pontos considerados na regressão (ENKE; NIEMAN, 1976).

O FTIR é amplamente reconhecido por suas múltiplas vantagens. Trata-se de uma técnica ágil, precisa e que não causa danos à amostra, sendo de fácil manuseio e exigindo pouca habilidade técnica. Ele requer quantidades mínimas de material para análise e, quando

necessário, permite preparação simples e rápida da amostra. Além disso, seu uso dispensa corantes ou reagentes químicos, o que reduz custos operacionais. Por ser uma técnica livre de marcadores, também possibilita a análise direta de materiais biológicos, detectando alterações moleculares de forma rápida, específica e não invasiva. Outra característica importante é sua aplicabilidade em análises automatizadas e repetitivas por meio de software, contribuindo para avaliações objetivas, eficientes e de baixo custo (ZHANG et al., 2010; ELKINS, 2011; SIMONOVA; KARAMANCHEVA, 2013; DEPCIUCH et al., 2016).

Diversas áreas se beneficiam dessa tecnologia, desde as ciências biomédicas até indústrias como farmacêutica, alimentícia, ambiental, agrícola, forense, de tintas, papel e celulose. Por exemplo, no setor farmacêutico, a técnica é empregada para controle de qualidade de ingredientes e excipientes. Já na indústria de alimentos, as regiões MIR e NIR do espectro são utilizadas para análise de componentes como água, proteínas, lipídios e carboidratos. No setor agrícola, o FTIR é aplicado na avaliação de grãos quanto à sua composição físico-química. Nas indústrias de celulose e tintas, a técnica serve para identificar aditivos e resolver falhas de produto. Na área ambiental, permite o rastreamento de contaminantes em água, solo e ar. Na ciência forense, é usada para analisar materiais coletados em locais de crime, como fluidos corporais, fibras, drogas e explosivos (STUART, 2004; ELKINS, 2011).

Desde meados do século XX, a espectroscopia de IV tem sido usada para estudar estruturas de proteínas, polipeptídeos, lipídios, ácidos nucleicos e carboidratos. Contudo, a complexidade das amostras biológicas, que contêm diversas moléculas vibrando simultaneamente, exige maior refinamento na interpretação espectral. A partir das bandas características de absorção, é possível identificar grupos funcionais e estruturas moleculares específicas (BEEKES; LASCH; NAUMANN, 2007).

Para esse tipo de análise, as regiões espectrais mais relevantes são a de impressão digital (1500 a 450 cm^{-1}), as bandas amida I e II (1500 a 1700 cm^{-1}), e a região de estiramento de ligações (2550 a 3500 cm^{-1}), relacionadas a grupos S-H, O-H, N-H e C-H. Cada biomolécula apresenta assinaturas espectrais próprias, por exemplo, os ácidos graxos aparecem nas faixas de 2800 a 3050 cm^{-1} , enquanto as proteínas e peptídeos são detectadas entre 1500 a 1750 cm^{-1} por suas ligações C=O, N-H e C-N (ELLIS; GOODACRE, 2006; MOVASAGHI; REHMAN; REHMAN, 2008; BAKER et al., 2014).

O FTIR também permite diferenciar amostras biológicas com base em suas características químicas e estruturais, além de identificar modificações bioquímicas associadas a doenças. Isso torna a técnica extremamente útil para distinguir tipos celulares, tecidos e

fluidos corporais em contextos patológicos, além de auxiliar na detecção da progressão de enfermidades (BEEKES; LASCH; NAUMANN, 2007; CLEMENS et al., 2014). E também se destaca por seu potencial diagnóstico *in vivo*, eliminando procedimentos invasivos desnecessários, como biópsias, e acelerando a obtenção de resultados, inclusive durante cirurgias. Essa abordagem pode auxiliar os profissionais de saúde na tomada de decisões rápidas, sendo especialmente útil na detecção precoce de doenças, no acompanhamento da evolução clínica e na resposta ao tratamento.

Essa abordagem tem sido usada no diagnóstico de condições variadas como artrite, diabetes, distúrbios depressivos, aterosclerose, doenças ósseas e diversos tipos de câncer (ELLIS; GOODACRE, 2006; KRAFFT et al., 2009; DEPCIUCH et al., 2016). Estudos aplicaram FTIR a diferentes tipos de amostras, incluindo tecidos frescos, células vivas, sangue, saliva, urina, fezes, unhas, cabelos, leite materno, muco, entre outros (ELKINS, 2011; TREVISAN et al., 2014).

Desde os anos 1990, a técnica tem sido usada para distinguir entre tecidos normais e tumorais, especialmente em diagnósticos oncológicos. A tecnologia avança continuamente, oferecendo meios mais eficazes para detectar alterações neoplásicas ainda nos estágios iniciais (KENDALL et al., 2009; FADLELMOULA et al., 2022). Em nível molecular, o FTIR é capaz de evidenciar alterações estruturais celulares provocadas por transformações malignas. Essas mudanças, registradas nos espectros, permitem diferenciar entre células normais e cancerosas, especialmente dentro da região espectral de 4000 a 400 cm^{-1} , com destaque para o infravermelho médio (SIMONOVA; KARAMANCHEVA, 2013; BUNACIU; HOANG; ABOUL-ENEIN, 2015). Mais do que classificar tecidos saudáveis ou doentes esta técnica permite analisar tecidos sem a necessidade de corantes, facilitando o delineamento de margens tumorais e guiando biópsias e cirurgias (MACKANOS; CONTAG, 2010).

Em 2010, a espectroscopia foi utilizada para examinar amostras sanguíneas provenientes de indivíduos saudáveis e pacientes oncológicos. Os espectros foram coletados com uma resolução de 4 cm^{-1} , abrangendo a faixa espectral de 900 a 2000 cm^{-1} . Os dados revelaram que as bandas correspondentes a proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos apresentavam alterações significativas entre as amostras tumorais e normais, sendo que as bandas de absorção em 1643 cm^{-1} e 1550 cm^{-1} , conhecidas como amida I e amida II, respectivamente, predominavam nos espectros de amostras cancerosas. A banda de amida I está relacionada às vibrações de estiramento da ligação $\text{C}=\text{O}$, enquanto a amida II corresponde às vibrações de estiramento $\text{C}-\text{N}$ e flexão CNH . Em amostras de sangue normais, essas bandas

tendem a se apresentar com intensidade acentuada e forma definida (PRABHAKAR; JAIN; SINGH, 2010).

Posteriormente, em 2016, a técnica foi aplicada com o objetivo de detectar precocemente o câncer em amostras sanguíneas. O estudo incluiu 161 pacientes, cujos soros e plasmas sanguíneos foram analisados para identificar padrões espectrais relacionados a possíveis biomarcadores diagnósticos de carcinoma pulmonar de células não pequenas. A análise se concentrou nas regiões espectrais entre 2800 e 3200 cm^{-1} , referentes às vibrações de estiramento C–H, e entre 1750 e 875 cm^{-1} , conhecidas como regiões de impressão digital. A técnica permitiu distinguir entre indivíduos saudáveis e aqueles com carcinoma escamoso ou adenocarcinoma, com precisão de até 79%. Os achados reforçam o potencial da FTIR na detecção de câncer de pulmão, além de oferecer indícios da possibilidade de discriminar diferentes subtipos tumorais (OLLESCH et al., 2016).

No ano de 2018, um novo estudo evidenciou a aplicabilidade da espectroscopia ATR-FTIR no diagnóstico do melanoma cutâneo, permitindo não apenas a identificação do tumor, mas também a diferenciação entre células com baixo e alto potencial metastático. A técnica foi capaz de distinguir tipos de câncer como melanoma maligno e carcinoma basocelular, com base nas alterações moleculares e no grau de hidratação celular. As amostras foram analisadas entre 4000 e 400 cm^{-1} , e as regiões entre 4000 a 3000 cm^{-1} revelaram bandas associadas ao estiramento de ligações OH e NH, típicas de proteínas e colágeno dérmico. As variações no conteúdo hídrico da membrana celular, relacionadas à progressão e ao comportamento metastático do tumor, mostraram-se determinantes na diferenciação espectral das amostras analisadas (ANDLEEB et al., 2018).

Em 2020, um estudo empregou a espectroscopia ATR-FTIR para quantificar o teor proteico de vesículas extracelulares sem necessidade de etapas prévias de preparação das amostras. Após a calibração com albumina de soro bovino, as amostras derivadas de hemácias foram avaliadas com base na intensidade da banda amida I, que se mostrou proporcional à concentração proteica. As bandas amida A (3298 cm^{-1}), amida I (1657 cm^{-1}) e amida II (1546 cm^{-1}) foram utilizadas como marcadores espectrais. Também foram observadas bandas relacionadas aos componentes lipídicos, como os estiramentos antissimétricos e simétricos das cadeias metilênicas (2924 a 2850 cm^{-1}) e o estiramento C=O dos ésteres de glicerol, localizado em 1738 cm^{-1} (SZENTIRMAI et al., 2020).

Em 2021, o ATR-FTIR foi aplicado na triagem precoce da leucemia linfoblástica B em crianças. O estudo analisou espectros obtidos de amostras de soro sanguíneo de dez pacientes

pediátricos com a doença e os comparou com dez controles saudáveis. Embora os espectros médios não tenham mostrado diferenças evidentes inicialmente, a análise baseada nas proporções de alturas de picos corrigidos e no uso de segunda derivadas, permitiu identificar alterações significativas. Notadamente, a banda amida I (1700 a 1600 cm^{-1}), ligada ao estiramento C=O das ligações peptídicas, apresentou deslocamento: em indivíduos saudáveis, a posição era de 1645 cm^{-1} , enquanto nas amostras leucêmicas, foi observada em 1641 cm^{-1} . Tais variações espectrais demonstram o potencial da técnica como ferramenta não invasiva para o diagnóstico precoce da leucemia infantil, contribuindo para a redução de procedimentos invasivos e aceleração do processo diagnóstico (CHABER et al., 2021).

No caso do câncer de mama, o FTIR tem demonstrado utilidade em múltiplos aspectos: desde a detecção precoce e o monitoramento terapêutico até a análise intraoperatória de metástases linfonodais, a avaliação do microambiente tumoral e a caracterização de subtipos tumorais (BACKHAUS et al., 2010; BENARD et al., 2014; TIAN et al., 2015). A técnica também tem sido usada para investigar resistência a medicamentos e os efeitos de tratamentos em linhagens celulares como MDA-MB-231, MCF-7, SK-BR-3 e HBL-100 (MIGNOLET; GOORMAGHTIGH, 2015).

Em um estudo comparando tecidos mamários normais, cancerosos e regiões adjacentes ao tumor, foram observadas diferenças nos níveis de proteínas, carboidratos, lipídios e carotenoides em pacientes com câncer de mama (DEPCIUCH et al., 2016). Outro trabalho, utilizando FTIR em células mononucleares do sangue, conseguiu discriminar entre indivíduos com e sem câncer de mama, com acurácia superior a 80% (ZELIG et al., 2015). Estudos combinando FTIR com nanotecnologia de ouro identificaram alterações espectrais significativas entre células normais (MCF-12F) e cancerosas (MCF-7), especialmente na faixa de 2854 a 2956 cm^{-1} (LANE; SEO, 2012), reforçando o potencial dessa técnica na caracterização do câncer de mama.

O ATR-FTIR é especialmente vantajoso para amostras líquidas, como soro e saliva, ou semissólidas, pois requer volumes mínimos e preserva a integridade da amostra. No contexto oncológico, o ATR-FTIR vem ganhando destaque por permitir a identificação de perfis espectrais característicos de diferentes tipos de câncer, incluindo mama, colo uterino, próstata, cérebro e pulmão (HANDS et al., 2016; BAKER et al., 2014). Essa técnica é capaz de detectar mudanças sutis na bioquímica celular e molecular, como variações na conformação de proteínas, degradação de membranas lipídicas e alterações nos ácidos nucleicos, fenômenos que refletem processos como proliferação celular descontrolada, inflamação e morte celular

programada (BAKER et al., 2014). Assim, o FTIR se torna uma ferramenta promissora para diagnóstico precoce, classificação de estágios tumorais, predição de resposta terapêutica e monitoramento de recidivas.

Estudos demonstram que o espectro infravermelho do soro pode revelar assinaturas bioquímicas específicas do câncer de mama, possibilitando distinguir pacientes de controles saudáveis com alta acurácia (HANDS et al., 2016; BAKER et al., 2014). Já na saliva, a técnica também mostra potencial, detectando alterações moleculares relacionadas a processos inflamatórios e oncológicos, o que reforça seu papel como ferramenta de triagem complementar à biópsia líquida convencional (YAKOB et al., 2014).

Nesse sentido, o avanço da espectroscopia tem potencial para transformar o cenário do diagnóstico oncológico, especialmente quando aplicada a fluidos biológicos de fácil obtenção, como soro e saliva, contribuindo para o diagnóstico precoce, rastreamento populacional e medicina personalizada. A aplicação da espectroscopia FTIR na análise de amostras de soro e saliva de pacientes com câncer de mama abrange desde a detecção precoce da enfermidade até o acompanhamento de sua progressão e resposta ao tratamento, por meio da avaliação completa da assinatura bioquímica destes fluidos, que inclui componentes como lipídios, ácidos nucleicos, proteínas e carboidratos.

2.7 – Classes de biomoléculas

2.7.1 – Lipídios

Os lipídios são moléculas orgânicas hidrofóbicas, compostas principalmente por carbono, hidrogênio e oxigênio. Eles desempenham papéis fundamentais na estrutura das membranas celulares, na sinalização celular e como reserva energética. Podem ser classificados em ácidos graxos, triglicerídeos, fosfolipídios, esteróis e esfingolipídios (BUTTERWORTH, 2005).

Em contextos de câncer, ocorre uma reprogramação do metabolismo lipídico, com síntese acelerada de ácidos graxos e alterações no perfil do lipidoma celular e plasmático, processos que favorecem proliferação, migração, invasão e resistência terapêutica (SAGINI et al., 2023). Estudo mostra que alterações no metabolismo lipídico têm sido associadas à progressão tumoral, especialmente no câncer de mama. Por exemplo, o acúmulo de lipídios neutros em gotículas lipídicas está relacionado à sobrevivência celular sob estresse e à resistência à terapia (FUJIMOTO; PARTON, 2011). Além disso, perfis lipídicos podem servir

como biomarcadores para diagnóstico e prognóstico (BELORIBI-DJEFAFLIA; VASSEUR; GUILLAUMOND, 2016).

No ATR-FTIR, as bandas de absorção de lipídios são encontradas em inúmeras regiões espectrais: o intervalo de 3050 cm^{-1} a 2800 cm^{-1} para vibrações de alongamento assimétricas e simétricas de CH_2 e CH_3 , o intervalo de 1500 cm^{-1} a 1350 cm^{-1} para vibrações de deformação de CH_2 e CH_3 das cadeias acila de lipídios, o intervalo de 1745 cm^{-1} a 1725 cm^{-1} para vibrações de alongamento simétricas da ligação éster-carbonila ($\text{C}=\text{O}$) e o intervalo de 1270 cm^{-1} a 1000 cm^{-1} para vibrações ímpares (1240 cm^{-1}) e simétricas (1080 cm^{-1}) de PO_2 em fosfolipídios (CASAL; MANTSCH, 1984).

2.7.2 – Ácidos nucleicos

Os ácidos nucleicos são biopolímeros formados por nucleotídeos. O DNA (ácido desoxirribonucleico) armazena a informação genética, enquanto o RNA (ácido ribonucleico) participa da síntese proteica e regulação gênica. Os ácidos nucleicos circulantes emergem como biomarcadores em líquidos biológicos como sangue e saliva (MA et al., 2024). Alterações nesses ácidos, como mutações, metilação anômala ou expressão alterada de miRNAs, estão fortemente implicadas na carcinogênese (KELLOFF et al., 2005). Os ácidos nucleicos refletem alterações genômicas específicas do tumor e têm valor prognóstico e preditivo, possibilitando monitoramento de resposta terapêutica e detecção de recorrência. Em espectros vibracionais como ATR-FTIR, diferenças nos níveis de DNA/RNA foram utilizadas para distinguir câncer de tecidos benignos, incluindo no câncer de mama, para classificação molecular de tumores (MEDIPALLY et al., 2020).

No ATR-FTIR, os espectros dos ácidos nucleicos são caracterizados em quatro regiões espectrais: a região de 1780 cm^{-1} a 1550 cm^{-1} para vibrações no plano de ligações duplas de bases, a região de 1550 cm^{-1} a 1270 cm^{-1} para as vibrações de deformação de bases que incluem as vibrações de açúcar, a região de 1270 cm^{-1} a 1000 cm^{-1} para vibrações de PO_2 e, finalmente, a região de 1000 cm^{-1} a 780 cm^{-1} para as vibrações da estrutura açúcar-fosfato (SIEBERT; HILDEBRANDT; 2008).

2.7.3 – Proteínas

As proteínas são macromoléculas formadas por aminoácidos unidos por ligações peptídicas, fundamentais para praticamente todos os processos celulares. Elas atuam como enzimas, receptores, anticorpos, canais iônicos, entre outras funções. As proteínas salivares e

plasmáticas podem apresentar mudanças na expressão ou modificação pós-traducional (ex.: glicosilação) em cenários oncológicos. No contexto do câncer, alterações na expressão ou função de proteínas reguladoras do ciclo celular, apoptose e angiogênese são frequentes (HANAHA; WEINBERG, 2011). A detecção de proteínas tumorais específicas, como HER2, Ki-67, p53 e receptores hormonais, é essencial na classificação, escolha terapêutica e monitoramento do câncer de mama (HARBECK et al., 2019). Estudos mostraram que proteínas salivares específicas estão elevadas em pacientes com câncer, sugerindo uso promissor como biomarcadores diagnósticos ou de monitoramento (LIU_a et al., 2018).

No ATR-FTIR as bandas de absorção de proteínas são frequentemente atribuídas a grupos laterais de aminoácidos ou à estrutura peptídica na faixa de 1700 cm^{-1} a 1500 cm^{-1} . Os modos vibracionais da estrutura peptídica produzem as bandas amida I e II. A banda amida I (1700 cm^{-1} a 1600 cm^{-1}) está associada principalmente à vibração de flexão da ligação N-H. As bandas das amidas I e II são geralmente usadas para analisar a estrutura secundária da proteína (BARTH, 2007). A presença de bandas de absorção em 1450 cm^{-1} e 1400 cm^{-1} é devido aos modos de flexão de metila assimétricos e simétricos, respectivamente (FRINGELI; GÜNTARD, 1981).

2.7.4 – Carboidratos

Os carboidratos são biomoléculas constituídas por carbono, hidrogênio e oxigênio, cuja função principal é fornecer energia. Também participam da comunicação celular, adesão e reconhecimento, principalmente como glicoproteínas e glicolipídios. Em câncer, há ativação da glicólise aeróbica (efeito Warburg), com produção de lactato e desvio de intermediários para biossíntese celular (SILVA JÚNIOR et al., 2022).

O glicogênio, um polissacarídeo ramificado de glicose, é a forma de armazenamento energético em animais e também sofre alterações em tumores. Estudos demonstram que o metabolismo do glicogênio está alterado em vários tipos de câncer, incluindo o de mama. Células tumorais podem reprogramar esse metabolismo para promover sobrevivência em ambientes hipóxicos (FAVARO et al., 2012). Além disso, alterações na glicosilação de proteínas (ex.: mucinas como MUC1) têm papel no microambiente tumoral e são exploradas como alvos terapêuticos e biomarcadores (PINHO; REIS, 2015).

No ATR-FTIR, os espectros de carboidratos contêm bandas nas seguintes faixas: a região de 3600 cm^{-1} a 3050 cm^{-1} é atribuída à vibração de alongamento de OH, a faixa de 3050 cm^{-1} a 2800 cm^{-1} às vibrações de alongamento de CH_3 e CH_2 , a região de 1200 cm^{-1} a 800

cm^{-1} às vibrações de alongamento das espécies CO/CC e, finalmente, 1500 cm^{-1} a 1200 cm^{-1} se relaciona aos modos deformacionais das espécies CH_3/CH_2 (WIERCIGROCH et al., 2017).

A compreensão das biomoléculas, incluindo lipídios, ácidos nucleicos, proteínas e carboidratos, fornece base essencial para elucidar os mecanismos celulares e moleculares envolvidos na transformação maligna, crescimento tumoral e resistência terapêutica. Essas macromoléculas não apenas sustentam as funções vitais das células cancerígenas, como também influenciam diretamente processos como proliferação descontrolada, evasão da apoptose e adaptação ao microambiente tumoral. Ao entender como essas estruturas bioquímicas contribuem para o comportamento agressivo do câncer, torna-se possível avançar para uma análise mais ampla da progressão da doença, da disseminação metastática e das implicações clínicas, incluindo a necessidade de cuidados paliativos integrados para pacientes em estágios avançados.

2.8 – Progressão e metástase tumoral

A progressão tumoral é um processo que ocorre em várias etapas resultado do acúmulo gradual de alterações genéticas, epigenéticas e micro ambientais que permitem a transformação de células normais em células malignas altamente agressivas e invasivas. Segundo os pesquisadores Hanahan e Weinberg (2011), o desenvolvimento tumoral é marcado pela aquisição progressiva, que caracterizam o comportamento maligno dos tumores humanos.

Uma das primeiras alterações observadas é a capacidade dessas células de estimular de forma contínua sua própria proliferação, por meio da produção autônoma de fatores de crescimento, como o fator de crescimento epidérmico. Paralelamente, ocorre a inibição de mecanismos que normalmente restringiriam essa multiplicação celular, como é o caso das proteínas supressoras tumorais retinoblastoma (RB) e TP53. Enquanto RB integra sinais reguladores de proliferação celular provenientes do ambiente celular, TP53 atua como sensor de danos genéticos, interrompendo o ciclo celular ou promovendo a morte celular diante de lesões significativas no DNA (HANAHA; WEINBERG, 2011).

A perda da capacidade de ativar a apoptose, processo natural de morte celular programada, permite com que essas células escapem de um importante mecanismo de defesa do organismo. Além da apoptose, mecanismos como autofagia e necrose também exercem papéis no controle da população celular, seja de forma isolada ou combinada. Quando essas vias de morte celular são desreguladas, a sobrevivência das células tumorais é favorecida, contribuindo para a progressão da doença (HANAHA; WEINBERG, 2011).

Como resultado dessas alterações, as células malignas se tornam capazes de se replicar indefinidamente, adquirindo um comportamento "imortal". Diferentemente das células normais, que entram em senescência após um número limitado de divisões, as células tumorais continuam proliferando sem controle. Esse processo ocorre em um ambiente de instabilidade genômica, favorecendo o acúmulo de mutações e dando origem a populações celulares geneticamente distintas dentro do mesmo tumor, um fenômeno conhecido como heterogeneidade intratumoral (LANDAU et al., 2013; GERLINGER et al., 2012). Esse microambiente é frequentemente caracterizado por intensa atividade inflamatória, que também contribui para a progressão tumoral.

Mecanismos moleculares como a transição epitélio-mesênquima (EMT), alterações na via PI3K/AKT/mTOR, ativação de metaloproteinases de matriz (MMPs), além da modulação de vias inflamatórias, como NF- κ B, são amplamente envolvidos na progressão tumoral (SANCHEZ-VEGA et al., 2018; LIU_b et al., 2018). A EMT, por exemplo, induz perda da adesão celular, aumento da motilidade e resistência a apoptose, sendo um evento chave para a invasão e metástase (YANG; WEINBERG, 2008).

Para manter esse crescimento acelerado, os tumores precisam de suprimentos constantes de energia, nutrientes e oxigênio. Assim, as células neoplásicas reprogramam seu metabolismo, aumentando drasticamente a captação de glicose e favorecendo a via glicolítica anaeróbica, mesmo na presença de oxigênio, fenômeno conhecido como efeito Warburg. Essa via resulta na produção elevada de ácido láctico e em menor eficiência na fosforilação oxidativa mitocondrial (HANAHAHAN; WEINBERG, 2011). Além disso, para garantir suprimento adequado, essas células estimulam a formação de novos vasos sanguíneos, processo denominado angiogênese, por meio da ativação de fatores como o VEGF (fator de crescimento do endotélio vascular). A formação de novos capilares não apenas sustenta o crescimento tumoral, como também favorece a capacidade invasiva das células, permitindo que elas atravessem vasos e tecidos adjacentes. Esse comportamento culmina na disseminação para órgãos distantes, estabelecendo novos focos tumorais e comprometendo o funcionamento de estruturas essenciais, um processo conhecido como metástase, que complica o tratamento e reduz significativamente as taxas de sobrevida (FERLAY et al., 2021; HANAHAHAN; WEINBERG, 2011).

No contexto do câncer de mama, os principais sítios de metástase são ossos, fígado, pulmões e cérebro (CARDOSO et al., 2018). A progressão tumoral se manifesta por meio de eventos que promovem a transição de lesões pré-malignas (como hiperplasia ductal atípica e

carcinoma ductal *in situ*) para carcinomas invasivos, com subsequente potencial metastático. Essa progressão é impulsionada por alterações moleculares específicas e interações dinâmicas entre as células tumorais e o microambiente mamário (POLYAK, 2011). As mutações em genes como TP53, PIK3CA, BRCA1/2, além da super expressão de HER2, são determinantes na evolução de subtipos moleculares agressivos, como o câncer de mama triplo negativo e o HER2-enriquecido (PEREIRA et al., 2016). Os subtipos luminais (A e B), apesar de mais indolentes, também podem progredir para formas metastáticas, especialmente quando há alta proliferação celular indicada pelo marcador Ki-67 (CUZICK et al., 2011).

A ativação da EMT em células mamárias neoplásicas contribui para a perda da expressão de E-caderina e ganho de marcadores mesenquimais como vimentina, facilitando a invasão do estroma adjacente e a intravasão vascular (DONGRE; WEINBERG, 2019). A presença de células-tronco tumorais mamárias também tem sido associada à progressão e recidiva do câncer de mama, devido à sua alta capacidade proliferativa e resistência à quimioterapia (LIU; WICHA, 2010).

O microambiente mamário exerce papel crucial na progressão do tumor por meio de sinais de fibroblastos associados ao câncer, células imunes suprimidas (como macrófagos do tipo M2 e linfócitos T reguladores), além de liberação de citocinas inflamatórias (IL-6, IL-8, TNF- α). A ativação dessas vias inflamatórias contribui para a remodelação da matriz extracelular, evasão imunológica e angiogênese (QUAIL; JOYCE, 2013).

Diante do entendimento dos mecanismos envolvidos na progressão tumoral, especialmente no câncer de mama, torna-se evidente a importância de compreender os sinais sistêmicos que refletem essa dinâmica biológica. A inflamação crônica tem papel central nesse processo, promovendo a sobrevivência celular, angiogênese, evasão imunológica e formação de metástases. Nesse contexto, diversos marcadores inflamatórios sistêmicos têm sido investigados como potenciais ferramentas prognósticas e preditivas na prática clínica. Parâmetros hematológicos simples e acessíveis, como o RDW, a razão RDW/Plaquetas (RPR), a razão neutrófilos/linfócitos (N/L) e a razão linfócitos/monócitos (L/M), têm demonstrado associação com a resposta inflamatória tumoral e a progressão da doença. Além disso, citocinas pró-inflamatórias e imunomoduladoras, como IL-1BETA, IL-6 e IL-10, influenciam diretamente o microambiente tumoral e a evolução clínica. Assim, a análise integrada desses marcadores pode oferecer *insights* valiosos sobre o comportamento tumoral e abrir novas perspectivas para o monitoramento e a estratificação de risco em pacientes com câncer de mama.

2.9 – Marcadores inflamatórios sistêmicos

2.9.1 – Amplitude de distribuição das hemácias (RDW)

A amplitude de distribuição das hemácias (RDW) é um parâmetro hematológico obtido a partir do hemograma completo, que reflete a variação no volume ou tamanho das hemácias (anisocitose), sendo expresso como um coeficiente de variação (%). Tradicionalmente utilizado na avaliação de anemias, o RDW tem emergido nas últimas décadas como um biomarcador inflamatório sistêmico associado a diversas condições clínicas, incluindo doenças cardiovasculares, autoimunes, infecções crônicas e diferentes tipos de câncer (SALVAGNO et al., 2015).

A atenção a esse sinal tem crescido bastante, com provas indicando que ele representa um relevante fator de risco autônomo para óbito, além de ser facilmente acessível e econômico, qualificando-se como um possível biomarcador de prognóstico em indivíduos com câncer. Em neoplasias malignas, a inflamação sistêmica e o estresse oxidativo promovem alterações no microambiente hematopoiético, afetando a produção e a maturação dos eritrócitos. Essas condições levam à liberação de hemácias imaturas ou morfollogicamente alteradas na circulação periférica, resultando em maior heterogeneidade do tamanho celular e, conseqüentemente, no aumento do RDW (LIPPI et al., 2009). Essas alterações são comuns no contexto tumoral, sugerindo que o RDW pode servir como um reflexo indireto da progressão e agressividade tumoral.

Estudos demonstraram que RDW elevado está associado a piores desfechos clínicos em diversos tipos de câncer, como câncer gástrico, colorretal, pulmonar, hepático e hematológicos (YOUSEFI et al., 2020; WANG et al., 2019). O trabalho de Hu e seus colegas (2016) mostrou que pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas que têm RDW elevado possuem uma sobrevida global inferior em comparação àqueles com níveis normais de RDW. Isso está ligado a uma inflamação sistêmica maior e a uma resposta imunológica comprometida, ambos fatores que podem afetar de forma negativa o prognóstico.

Diversas pesquisas também apontam para o papel desse marcador como um indicador prognóstico em pacientes com câncer de esôfago (CHEN_b et al., 2015), carcinoma hepatocelular (SMIRNE et al., 2015) e câncer de pulmão (KOMA et al., 2013). Além disso, ele é considerado um preditor independente e prognóstico da sobrevivência do paciente no momento do diagnóstico (MONTAGNANA; DANESE, 2016). Ademais, investigações indicam que altos

níveis desse marcador estão associados a uma maior taxa de mortalidade e a menores índices de sobrevivência em casos de linfoma difuso de grandes células (KAMANDI et al., 2023) e câncer colorretal (ZHAO et al., 2023).

O papel do RDW como biomarcador no câncer de mama vem ganhando atenção particular devido à sua acessibilidade, baixo custo e potencial utilidade clínica. Alguns estudos evidenciam uma associação significativa entre RDW aumentado e características clínicas adversas, como maior estadiamento, presença de metástases e menor sobrevida global. Yoo e colaboradores (2021) demonstraram que valores pré-operatórios elevados de RDW foram preditores independentes de menor sobrevida livre de doença em pacientes com câncer de mama invasivo. Da mesma forma, Yao e colaboradores (2019) observaram que pacientes com altos níveis de RDW apresentavam tumores mais agressivos, com maior expressão de Ki-67 e receptores hormonais negativos. Esses achados indicam que o RDW pode refletir não apenas o estado inflamatório sistêmico, mas também a biologia intrínseca do tumor.

Estudo aponta que esta ferramenta diagnóstica de suporte, pode ser utilizada para diferenciar tumores de mama benignos de malignos (SERETIS et al., 2013) e Xiao e colaboradores (2024) sugerem que níveis elevados desse marcador, se correlacionam com o aumento da mortalidade e menores taxas de sobrevivência em câncer de mama. Outros estudos exploram a correlação do RDW com subtipos moleculares do câncer de mama. Chen e colaboradores (2016) sugerem que pacientes com tumores triplo-negativos apresentaram maiores níveis de RDW, possivelmente refletindo a natureza biologicamente mais agressiva e inflamatória desses tumores. Adicionalmente, há evidências de que o RDW possa se associar a outras alterações hematológicas, como a contagem de plaquetas e a razão (N/L), formando painéis combinados de marcadores sistêmicos para estratificação de risco e prognóstico (CHO et al., 2018).

Estudos indicaram que um aumento nos níveis de RDW antes do tratamento pode estar ligado a uma menor taxa de sobrevivência sem doença e a uma sobrevida global reduzida (HUANG; MA; XIANG, 2016). Além disso, em uma investigação retrospectiva, foi constatado que em indivíduos com câncer de mama, altos níveis de RDW antes do tratamento estiveram relacionados a taxas mais baixas de sobrevida global e a uma diminuição da sobrevida livre de doença, sendo sugerido como um possível fator indicativo de um prognóstico desfavorável (YAO et al., 2019). Uma relação positiva entre RDW e a morte por câncer foi observada, sugerindo que níveis elevados de RDW estão ligados a um risco maior de mortalidade, sendo

visto como um marcador prognóstico independente para óbito em indivíduos com câncer, após a internação (LI et al., 2018).

Ainda que os mecanismos exatos que ligam o RDW à oncogênese e progressão tumoral não estejam completamente esclarecidos, a hipótese inflamatória é a mais aceita. As células tumorais e os elementos do microambiente tumoral (macrófagos, linfócitos e fibroblastos) secretam citocinas inflamatórias que afetam a hematopoiese e promovem alterações morfológicas e funcionais nas hemácias, como aumento da fragilidade da membrana e diminuição da deformabilidade, características detectáveis pelo aumento do RDW (CHI et al., 2022).

Embora o RDW seja um marcador inespecífico, sua associação com a inflamação sistêmica, desregulação hematopoiética e progressão tumoral o torna um biomarcador promissor no câncer de mama. Sua utilidade clínica pode estar na avaliação prognóstica, na monitorização de resposta terapêutica e, potencialmente, na triagem complementar, especialmente em cenários de baixa complexidade ou recursos limitados. Contudo, são necessários estudos multicêntricos e prospectivos para validar sua aplicabilidade na prática clínica e estabelecer valores de referência padronizados de acordo com os subtipos tumorais.

2.9.2 – Razão RDW/Plaquetas (RPR)

A inflamação sistêmica e a resposta do indivíduo ao tumor são elementos centrais na gênese, progressão e disseminação do câncer. Nesse contexto, biomarcadores hematológicos derivados do hemograma completo têm se mostrado promissores por refletirem, de forma indireta, o estado inflamatório, imunológico e hemostático do paciente. Dentre esses, a razão entre o RDW e a contagem plaquetária, conhecida como RPR (*Red cell Distribution Width-to-Platelet Ratio*), tem emergido como um indicador inflamatório de valor prognóstico em diferentes neoplasias (TAKEUCHI et al., 2019; BILGIN et al., 2019; EOH et al., 2023).

A RPR combina dois marcadores hematológicos que são individualmente influenciados pela inflamação tumoral crônica. O RDW aumenta diante de desordens hematopoiéticas, hipóxia tecidual, estresse oxidativo e disfunção na eritropoese, condições frequentemente observadas em indivíduos com câncer (HU et al., 2013). Por sua vez, plaquetas desempenham papel ativo no crescimento tumoral, angiogênese e metástase, além de serem recrutadas por citocinas inflamatórias e fatores tumorais. Assim, alterações quantitativas e funcionais nas plaquetas são comuns em pacientes oncológicos, podendo representar um mecanismo de suporte tumoral e marcador de gravidade (GAY; FELDING-HABERMANN, 2011).

O RPR, ao integrar essas duas variáveis, potencializa a sensibilidade para detectar processos inflamatórios e pró-tumorais subjacentes, apresentando-se como um índice superior à análise isolada de seus componentes. Sua biologia no contexto da enfermidade está ligada à relação entre o câncer e o microambiente responsável pela formação de células sanguíneas. O câncer é capaz de liberar citocinas e fatores de crescimento que influenciam a hematopoese, resultando em anisocitose e trombocitose. Adicionalmente, a hipóxia causada pelo tumor pode incentivar a produção de eritropoetina, elevando a variação no tamanho dos glóbulos vermelhos (KOMA et al., 2013).

Vários estudos demonstram que valores elevados de RPR estão associados à maior carga tumoral, doença metastática, menor sobrevida global e menor sobrevida livre de progressão em diversos tipos de câncer, como câncer gástrico, glioblastoma e colorretal (GOYAL et al., 2017; SCHNEIDER et al., 2021; BILGIN et al., 2019). Bilgin e colaboradores (2019) concluíram que o RPR pode ser utilizado como um indicador prognóstico em pacientes com câncer colorretal, podendo ser útil no monitoramento da resposta ao tratamento oncológico.

No caso específico do câncer de mama, evidências crescentes apontam que o RPR pode servir como um biomarcador prognóstico independente, refletindo não apenas o estado inflamatório sistêmico, mas também a agressividade biológica do tumor. Em um estudo retrospectivo com pacientes com câncer de mama invasivo, Takeuchi e colaboradores (2019) demonstraram que níveis elevados de RPR estavam associados a maior estadiamento clínico, presença de metástases linfonodais e pior sobrevida global. O RPR elevado também foi correlacionado a subtipos tumorais mais agressivos, como o triplo-negativo. Além disso, o RPR tem mostrado utilidade como marcador de resposta terapêutica. Estudo relata que pacientes com câncer de mama que apresentavam queda nos níveis de RPR após o tratamento adjuvante, especialmente a quimioterapia, tiveram melhor desfecho clínico em comparação àqueles com RPR persistentemente elevado (WANG et al., 2009). Essa aplicabilidade pode contribuir para a estratificação de risco, planejamento terapêutico e monitoramento longitudinal da doença.

A plausibilidade biológica dessa associação está ancorada no entendimento de que tanto a inflamação sistêmica quanto a trombocitose reativa são componentes-chave do microambiente tumoral. As plaquetas, além de fornecerem suporte estrutural para a disseminação tumoral por meio de agregados com células cancerígenas na circulação, também liberam fatores de crescimento (VEGF, PDGF) e citocinas pró-inflamatórias que favorecem a angiogênese, evasão imune e metástase (LABELLE; BEGUM; HYNES, 2011).

No entanto, apesar dos resultados promissores, a incorporação clínica do RPR ainda enfrenta limitações, incluindo a ausência de valores de referência padronizados, a heterogeneidade entre os estudos e a influência de comorbidades (anemia, infecções, distúrbios hematológicos) que também alteram os parâmetros hematológicos. Portanto, é fundamental que futuras pesquisas, especialmente estudos prospectivos multicêntricos com grandes coortes, explorem a validade, reprodutibilidade e aplicabilidade clínica do RPR no contexto do câncer de mama.

2.9.3 – Razão neutrófilos/linfócitos (N/L)

O câncer é uma doença multifatorial cuja progressão está intimamente relacionada ao estado inflamatório sistêmico do organismo. Nas últimas décadas, diversos biomarcadores hematológicos derivados do hemograma completo, como a razão neutrófilos/linfócitos (N/L), ganharam destaque por sua simplicidade, baixo custo e potencial prognóstico. A relação N/L representa o balanço entre duas linhagens celulares do sistema imunológico: os neutrófilos, que promovem a inflamação, e os linfócitos, que são essenciais na resposta imune antitumoral. Um aumento na razão N/L tem sido associado a prognóstico desfavorável em diversos tipos de câncer, incluindo o câncer de mama (LI et al., 2014; CHEN_b et al., 2015; GU et al., 2016; TEMPLETON et al., 2014; ETHIER et al., 2017).

A elevação da razão N/L sugere um predomínio do eixo inflamatório pró-tumoral, favorecendo a angiogênese, a evasão imune e a progressão neoplásica. Neutrófilos recrutados para o microambiente tumoral podem promover a liberação de fatores pró-angiogênicos (como VEGF), enzimas proteolíticas e citocinas inflamatórias que facilitam a migração, invasão e metástase de células tumorais. Por outro lado, uma linfopenia relativa pode indicar supressão da imunidade adaptativa, com redução da vigilância imunológica e da destruição de células neoplásicas (GOODEN et al., 2011; GRIVENNIKOV; GRETEN; KARIN, 2010).

No câncer de mama, diversos estudos apontam que a razão N/L elevada está significativamente associada a piores desfechos clínicos, incluindo menor sobrevida global e menor sobrevida livre de progressão. Um estudo retrospectivo com 1.510 pacientes com câncer de mama realizado por Ethier et al. (2017) demonstrou que pacientes com N/L acima de 4,0 apresentaram aumento significativo na taxa de recorrência e mortalidade, independentemente de outros fatores prognósticos como estadiamento clínico ou subtipo molecular.

Além disso, o valor preditivo da N/L tem se mostrado relevante em diversos contextos clínicos, incluindo a resposta à quimioterapia neoadjuvante, ocorrência de metástases

linfonodais, status do receptor hormonal e subtipo molecular do tumor. Em pacientes com câncer de mama triplo-negativo, valores elevados de N/L foram relacionados a pior resposta ao tratamento e pior prognóstico. Adicionalmente, foi visto que uma alta razão N/L está associada a taxas desfavoráveis de sobrevida global e sobrevida livre de doença em pacientes com câncer de mama, sendo seu valor prognóstico congruente entre diversos fatores clínico-patológicos, dentre o estadiamento e subtipo da doença (CORBEAU; JACOT; GUIU, 2020).

A medição da razão N/L é não invasiva e facilmente obtida, sendo calculada a partir de exames laboratoriais rotineiros. Isso a torna uma ferramenta promissora não apenas para estratificação de risco, mas também como auxílio na tomada de decisões clínicas. Ainda assim, não há um ponto de corte universalmente aceito, e os valores de referência podem variar entre populações e tipos de câncer (FORGET et al., 2017). Outro ponto de atenção é a influência de condições inflamatórias não malignas, como infecções ou doenças autoimunes, que podem alterar temporariamente os níveis de neutrófilos e linfócitos.

Diante disso, diversos autores sugerem que a razão N/L deva ser utilizada em conjunto com outros marcadores inflamatórios, como a razão linfócitos/monócitos (L/M), a razão RDW/plaquetas (RPR) e as interleucinas (IL-6, IL-10), compondo um painel inflamatório sistêmico com maior poder prognóstico (ZHANG; SUN; ZHANG, 2020; CORBEAU et al., 2020).

Assim, a razão N/L representa uma interface entre imunologia, inflamação e oncologia clínica, com crescente valor como marcador prognóstico no câncer de mama, especialmente quando utilizada em conjunto com variáveis clínicas e moleculares. A consolidação de sua aplicabilidade clínica, contudo, depende de mais estudos prospectivos, multicêntricos e padronizados.

2.9.4 – Razão linfócitos/monócitos (L/M)

Dentre os biomarcadores hematológicos utilizados para refletir o estado imunoinflamatório do indivíduo, a razão linfócitos/monócitos (L/M) tem se destacado como um indicador promissor, especialmente em contextos oncológicos. Esse índice, facilmente obtido a partir de um hemograma comum, é calculado pela divisão do número absoluto de linfócitos pelo número absoluto de monócitos circulantes. Uma razão L/M reduzida tem sido associada à maior agressividade tumoral, metástase e menor sobrevida em diversos tipos de câncer, como pancreático (STOTZ et al., 2015; LI et al., 2024), cólon (STOTZ et al., 2014), hepatocelular e câncer de mama (CHO et al., 2018; LOSADA et al., 2019).

Do ponto de vista imunológico, linfócitos são células-chave da resposta imune antitumoral adaptativa, responsáveis por reconhecer e destruir células neoplásicas por meio de mecanismos mediados por células T citotóxicas e células *natural killers* (NK). Já os monócitos são precursores de macrófagos e células dendríticas e, ao infiltrarem o microambiente tumoral, podem se diferenciar em macrófagos associados ao tumor, que frequentemente assumem um fenótipo M2 imunossupressor e pró-tumoral. Estes macrófagos associados ao tumor favorecem a angiogênese, a evasão imunológica e a progressão do tumor (QIAN; POLLARD, 2010; MANTOVANI et al., 2017). Assim, uma baixa razão L/M sugere um desequilíbrio entre a defesa imunológica e o suporte tumoral, refletindo uma resposta inflamatória sistêmica deletéria.

No câncer de mama, diversos estudos têm demonstrado a associação entre uma razão L/M diminuída e desfechos clínicos negativos, como menor sobrevida global e sobrevida livre de progressão. Em uma metanálise conduzida por Hu e colaboradores em 2018, observou-se que pacientes com L/M reduzida apresentaram um risco significativamente maior de mortalidade e recorrência, independentemente do subtipo molecular. O estudo reforça a aplicabilidade da razão L/M como um marcador prognóstico não invasivo e de fácil obtenção clínica. Em outro estudo, mostrou que indivíduos que apresentam câncer de mama localmente avançado e altos índices de L/M ($\geq 4,25$) mostraram uma associação significativa com um aumento na sobrevida livre de doença. Após o tratamento com quimioterapia, essa conexão conseguiu prever um prognóstico positivo, indicando que a resposta imunológica ao câncer de mama está vinculada à ação de citocinas reguladoras que estão presentes no microambiente do tumor (NI et al., 2014).

Apesar do seu potencial clínico, a aplicação da razão L/M ainda carece de padronização de pontos de corte, e valores considerados prognósticos podem variar entre populações e metodologias. Além disso, condições inflamatórias agudas, infecções e doenças autoimunes podem interferir temporariamente nos níveis de linfócitos e monócitos, devendo ser cuidadosamente consideradas na interpretação clínica. Ainda assim, a razão L/M apresenta-se como um biomarcador de fácil acesso, custo reduzido e alto valor prognóstico, especialmente quando avaliada em conjunto com outros indicadores inflamatórios, como a razão neutrófilos/linfócitos (N/L), RDW, plaquetas e interleucinas, compondo um painel imunoinflamatório robusto para pacientes com câncer de mama.

2.9.5 – Interleucina-1 BETA (IL-1BETA)

A interleucina-1 BETA (IL-1BETA) é uma citocina predominantemente produzida por monócitos, macrófagos ativados e células epiteliais, embora também possa ser secretada por células dendríticas, linfócitos B, células NK e até por células tumorais. É uma citocina pró-inflamatória que em situações de equilíbrio fisiológico, seus níveis permanecem baixos, mas durante respostas imunes ativas, sua produção é amplificada, resultando em efeitos como febre, vasodilatação e queda da pressão arterial (SIMS; SMITH, 2010; DINARELLO, 2009).

Um dos principais papéis da IL-1BETA é a promoção da migração de células inflamatórias para locais de inflamação aguda e crônica, lesão ou infecção. Isso ocorre por meio do aumento da expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais e da estimulação da produção de quimiocinas, facilitando o recrutamento de células do sistema imune do sangue para os tecidos, onde participam do processo de remodelação tecidual (DINARELLO, 2009). Além disso, ela exerce papéis críticos na modulação da proliferação celular, angiogênese, invasão e metástase tumoral (DINARELLO, 2018).

A IL-1BETA é ativada via complexo inflamassoma NLRP3, sendo uma peça-chave na resposta inflamatória ligada à gênese do tumor (DINARELLO, 2018). Essa resposta inflamatória mediada pela IL-1BETA tende a ser bem regulada. No entanto, em quadros inflamatórios persistentes, essa citocina pode ser detectada em altas concentrações nos fluidos corporais, servindo como indicador de inflamação crônica (APTE et al., 2006).

Além de sua função imunológica, a IL-1BETA também participa de mecanismos associados à carcinogênese. Ela tem sido apontada como um importante mediador do microambiente tumoral. Sua super expressão pode induzir uma alteração fenotípica do estroma tumoral, promovendo a liberação de fatores como VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) e MMPs (metaloproteinases da matriz), os quais favorecem a angiogênese e a remodelação tecidual, facilitando o crescimento e a disseminação das células malignas. Além disso, a IL-1BETA pode estimular a produção de outras citocinas inflamatórias, como IL-6 e TNF- α , ampliando o circuito inflamatório no microambiente tumoral (BENT et al., 2018). Ela participa da formação de novos vasos sanguíneos (angiogênese), invasão tumoral e proliferação celular maligna. Dentro do microambiente tumoral, essa interleucina é comumente produzida por células mieloides, incluindo neutrófilos, monócitos, macrófagos e células dendríticas (DMITRIEVA et al., 2016).

Especificamente no câncer de mama, evidências crescentes têm demonstrado que níveis elevados de IL-1BETA estão associados a maior agressividade tumoral, pior prognóstico e resistência terapêutica. O estudo de Anber e colaboradores (2016) demonstrou que a IL-1BETA

está significativamente aumentada no soro de pacientes com câncer de mama em comparação com controles saudáveis, sendo particularmente mais expressa em pacientes com subtipos triplo-negativo e HER2-enriquecido, sugerindo uma associação com fenótipo tumoral mais agressivo. Além disso, estudos mostraram que a IL-1BETA pode promover a EMT em células de câncer de mama, aumentando sua motilidade e capacidade invasiva. Este mecanismo é fundamental para a progressão tumoral e estabelecimento de metástases, especialmente em órgãos distantes como os ossos e o cérebro (ZHOU; TULOTTA; OTTEWELL, 2022). Ensaios clínicos em andamento vêm explorando o uso de inibidores de IL-1BETA, como o canaquinumabe, como terapia adjuvante em diversos tipos de câncer, incluindo o câncer de mama (RIDKER et al., 2017) e abrindo novas perspectivas para a oncologia de precisão.

2.9.6 – Interleucina-6 (IL-6)

A interleucina-6 (IL-6) é uma citocina de natureza pró-inflamatória, que exerce papéis centrais tanto na resposta imune quanto no metabolismo, imunidade adaptativa e formação dos elementos celulares do sangue. A sua produção pode ser induzida por diferentes tipos celulares, incluindo macrófagos, fibroblastos, linfócitos T, células endoteliais, mesenquimais e células tumorais (AKIRA; TAGA; KISHIMOTO, 1993). Quando ocorre um estímulo inflamatório em um tecido específico, há ativação local da síntese de IL-6, que posteriormente atinge o fígado, onde promove a produção de proteínas de fase aguda moduladas por sua ação (TANAKA; NARAZAKI; KISHIMOTO, 2014).

Na medula óssea, a IL-6 participa da hematopoese, estimulando a diferenciação de megacariócitos e, por consequência, contribuindo para a geração de plaquetas (ISHIBASHI et al., 1989). Além disso, essa citocina está envolvida na resposta imune adaptativa, favorecendo tanto a produção de anticorpos quanto a ativação de linfócitos T efetores, desempenhando assim, papel fundamental na imunidade humoral. Seus efeitos não se restringem ao sistema imunológico e sua expressão desregulada pode estar implicada no desenvolvimento de diversas doenças (KIMURA; KISHIMOTO, 2010).

Embora a IL-6 seja essencial para a manutenção da homeostase, estudos demonstram que ela também pode exercer funções pró-tumorais, atuando como mediadora-chave do eixo inflamação-câncer, promovendo a proliferação celular, angiogênese, ativação da produção de estrogênios, promoção da migração celular, indução da EMT, invasão tecidual, metástase, resistência terapêutica e inibição de mecanismos apoptóticos, contribuindo para a progressão do câncer (SINGH et al., 1997; KUMARI et al., 2016). Sua participação na tumorigênese tem

sido amplamente reconhecida (TANAKA; NARAZAKI; KISHIMOTO, 2014). Níveis elevados de IL-6 circulante têm sido associados a pior prognóstico em pacientes com câncer de mama, como observado por Salgado e colaboradores (2003), que relataram desfechos negativos em pacientes pré-tratadas com essa citocina. No entanto, outros autores, como Karczewska e colaboradores (2000), observaram que o aumento na expressão de mRNA de IL-6 e de seu receptor (IL-6R) pode estar relacionado a melhor prognóstico em determinados contextos clínicos.

No câncer de mama, altos níveis séricos e intratumorais de IL-6 estão correlacionados com maior agressividade tumoral, progressão clínica, presença de metástases, pior prognóstico e menor sobrevida global, o que reforça seu potencial como biomarcador de gravidade e progressão tumoral (CHANG et al., 2013). A IL-6 está frequentemente aumentada em pacientes com subtipos moleculares mais agressivos, como o triplo-negativo e HER2-enriquecido, desempenhando um papel significativo na manutenção de células-tronco tumorais e na quimiorresistência (SANSONE et al., 2007; JOHNSON; O'KEEFE; GRANDIS, 2018).

Estudos experimentais demonstram que o bloqueio da sinalização da IL-6 pode reduzir a proliferação celular, suprimir a formação de esferas mamárias (indicativas de células-tronco tumorais) e aumentar a sensibilidade à quimioterapia. Além de sua atuação biológica, a IL-6 tem ganhado destaque como biomarcador diagnóstico, prognóstico e preditivo de resposta ao tratamento (LIU et al., 2023). Uma metanálise conduzida por Liu e colaboradores (2023) evidenciou que pacientes com câncer de mama apresentam níveis séricos de IL-6 significativamente mais elevados em comparação com controles saudáveis, sendo também maior nos estágios avançados da doença. Isso reforça seu potencial como marcador de estratificação de risco e alvo terapêutico.

Do ponto de vista clínico, a IL-6 também participa de processos associados à caquexia tumoral, resposta sistêmica inflamatória, trombocitose paraneoplásica e imunossupressão tumoral, o que contribui para um microambiente favorável à progressão do câncer. Essa evidência tem impulsionado o desenvolvimento de estratégias terapêuticas baseadas no bloqueio da via IL-6, como os agentes tocilizumabe e ruxolitinibe, atualmente em investigação clínica para neoplasias sólidas, incluindo o câncer de mama (JOHNSON; O'KEEFE; GRANDIS).

2.9.7 – Interleucina-10 (IL-10)

A interleucina 10 (IL-10) é reconhecida como uma das citocinas mais potentes no controle de processos inflamatórios. Sua descoberta remonta a 1989, quando Fiorentino; Bond; Mosmann, identificaram uma substância presente no sobrenadante de culturas de linfócitos Th2, que inibia seletivamente a produção de citocinas por linfócitos Th1. Inicialmente nomeada como Fator Inibidor da Síntese de Citocinas, análises posteriores de natureza bioquímica e imunológica confirmaram tratar-se de uma nova citocina, posteriormente denominada IL-10 (MOORE et al., 2001).

Essa molécula apresenta um papel multifacetado na modulação do sistema imune, sendo produzida por uma ampla variedade de tipos celulares, tais como, leucócitos, linfócitos T reguladores, células dendríticas, macrófagos, além de células tumorais de diferentes origens, como as de mama, pâncreas, rim, cólon, bem como por melanomas e neuroblastomas (SAXENA et al., 2015; AHMAD et al., 2018). A IL-10 é caracterizada por uma meia-vida curta e um alcance de ação limitado, porém sua produção por diferentes tipos celulares garante uma resposta rápida e localizada sempre que necessária.

Além de sua ampla distribuição, a IL-10 pode exercer funções específicas dependendo do tipo celular envolvido. Ela desempenha papel essencial na modulação da resposta imune, especialmente por inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6 e TNF- α , além de reduzir a expressão de moléculas coestimulatórias e a ativação de células apresentadoras de antígenos (IYER; CHENG, 2012; COUPER; BLOUNT; RILEY, 2008). Um exemplo clássico é sua atuação nas células T regulatórias, que utilizam essa citocina para suprimir reações inflamatórias e respostas autoimunes, conforme demonstrado por Denning; Kim; Kronenberg (2005) em modelos de colite. Células B com função reguladora também vêm sendo investigadas pela sua capacidade de manter a autotolerância através da liberação de IL-10 (MAURI; BOSMA, 2012). Por sua vez, células apresentadoras de antígenos (APCs) e elementos da imunidade inata, como macrófagos e células dendríticas, não apenas produzem IL-10, como também utilizam essa citocina como mecanismo de retroalimentação autócrina para limitar sua própria ativação e, conseqüentemente, evitar respostas adaptativas excessivas (SAXENA et al., 2015).

Dessa forma, a IL-10 exerce um papel essencial na regulação tanto da imunidade inata quanto da adaptativa, atuando como um elemento-chave na modulação da atividade de células T e B, NK, APCs e outros componentes imunológicos. Quando há falhas na sua regulação, podem ocorrer graves conseqüências, incluindo estados de imunodeficiência, doenças autoimunes ou danos teciduais intensos (HOFMANN et al., 2012).

Essa citocina desempenha um papel ambíguo no contexto oncológico: por um lado, possui características antiangiogênicas e propriedades imunomoduladoras que podem contribuir para conter o crescimento e a disseminação tumoral; por outro, ao agir como um agente imunossupressor, pode facilitar a evasão do sistema imunológico pelas células cancerígenas, inibindo a apresentação de antígenos aos linfócitos T CD8 e promovendo, assim, um comportamento mais agressivo das células malignas (MOCELLIN et al., 2003; RUFFELL; AFFARA; COUSSENS, 2012; NAING et al., 2018).

No câncer de mama, assim como em outros tipos de neoplasias, a IL-10 apresenta efeitos contraditórios. Entre suas ações com potencial antitumoral, destacam-se a ativação de células NK e de linfócitos T citotóxicos, que contribuem para a resposta imune mediada por CD4 e CD8, além da supressão da produção de IL-6, uma citocina conhecida por estimular a proliferação tumoral ao induzir proteínas pró-sobrevivência e favorecer a angiogênese (HAMIDULLAH; CHANGKIJA; KONWA, 2012).

Contudo, quando em concentrações elevadas, a IL-10 pode favorecer o crescimento tumoral ao enfraquecer a imunovigilância. Isso ocorre pela redução da capacidade dos macrófagos de apresentar antígenos, além da inibição da produção de outras citocinas fundamentais para a detecção e destruição das células tumorais pelo sistema imune (HAMIDULLAH; CHANGKIJA; KONWA, 2012). A produção de IL-10 por células imunológicas e neoplásicas contribui significativamente para a proliferação celular e para a progressão do tumor, sendo comum encontrar níveis elevados dessa citocina no soro de pacientes com câncer de mama. É possível que células metastáticas secretoras de IL-10 induzam uma regulação negativa das respostas inflamatórias, promovendo um ambiente permissivo à disseminação tumoral (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015; HAMIDULLAH; CHANGKIJA; KONWA, 2012).

Vários estudos buscaram estabelecer correlações entre os níveis séricos de IL-10 e parâmetros clínico-patológicos no câncer mamário. Por exemplo, Chavey e colaboradores (2007) identificaram que pacientes com tumores negativos para o receptor de estrógeno apresentam maior expressão de IL-10 quando comparados àqueles com tumores RE positivos. Já Llanes-Fernandez e colaboradores (2006) observaram que altos níveis de IL-10 estavam associados a tumores HER2 positivos, enquanto pacientes com tumores negativos para p53 também apresentavam níveis aumentados dessa citocina.

Do ponto de vista clínico, a IL-10 tem sido investigada como biomarcador prognóstico e preditor de resposta imune, além de representar um potencial alvo terapêutico. Ensaios

clínicos estão avaliando IL-10 recombinante peguilada (pegilodecakin) em combinação com inibidores de checkpoint imunológico, com resultados promissores na ativação de células T específicas contra o tumor, especialmente em neoplasias refratárias (NAING et al., 2018; MUMM et al., 2011).

A IL-10 representa um componente crítico da interface entre inflamação, imunidade e progressão tumoral, especialmente no contexto do câncer de mama. A compreensão da sua dupla atuação, imunossupressora e imunomoduladora, é essencial para a exploração de estratégias terapêuticas personalizadas, especialmente em subgrupos com microambientes tumorais imunorregulatórios. A literatura tem reforçado o envolvimento da IL-10 tanto no início quanto na progressão do câncer de mama, sugerindo seu potencial como biomarcador diagnóstico ou prognóstico. No entanto, os mecanismos específicos por trás dessa atuação ainda não estão completamente elucidados, especialmente em populações geneticamente diversas, como a brasileira, nas quais os efeitos da IL-10 sobre o perfil clínico da doença ainda são pouco compreendidos.

A compreensão do papel dos marcadores inflamatórios sistêmicos no contexto oncológico, especialmente no câncer de mama, fornece subsídios importantes para a avaliação do prognóstico clínico. Esses biomarcadores não apenas refletem o estado imune e inflamatório do paciente, mas também se correlacionam com parâmetros de agressividade tumoral, resposta ao tratamento e risco de progressão. Nesse cenário, sua utilização como variáveis prognósticas ganha destaque na análise de sobrevida global, permitindo estimativas mais acuradas sobre os desfechos clínicos, sobretudo em modelos estatísticos multivariados. Assim, a seguir, serão abordados as estratégias e os fundamentos da análise de sobrevida global, com ênfase na aplicação clínica desses marcadores como possíveis preditores de mortalidade e recorrência tumoral.

2.10 – Análise de sobrevida global

A análise de sobrevida global (*Overall Survival – OS*) é uma métrica essencial na oncologia clínica e translacional, pois representa o tempo decorrido entre o diagnóstico ou início do tratamento e o óbito por qualquer causa. Este desfecho é amplamente utilizado em ensaios clínicos e estudos observacionais por refletir de maneira objetiva o impacto de intervenções terapêuticas, biomarcadores e características clínicas no prognóstico do paciente oncológico (PHUNG; TIN; ELWOOD, 2019).

No contexto do câncer, a sobrevida global é influenciada por diversos fatores, como estadiamento tumoral, perfil molecular, estado inflamatório sistêmico, resposta imune, tipo e tempo de tratamento, além de comorbidades e dados demográficos (ALLEMANI et al., 2018). O modelo estatístico mais empregado para esse tipo de análise é o modelo de riscos proporcionais de Cox, que permite a avaliação de múltiplas variáveis simultaneamente e sua associação com o tempo de vida dos pacientes (THERNEAU, 1997). O uso de curvas de Kaplan-Meier também é comum, especialmente para apresentar graficamente a probabilidade de sobrevivência ao longo do tempo e comparar grupos (KAPLAN; MEIER, 1958).

No câncer de mama, essa análise é ainda mais relevante devido à grande heterogeneidade da doença, que inclui subtipos como luminal A, luminal B, HER2-enriquecido e triplo-negativo, cada um com características biológicas, comportamentos clínicos e taxas de sobrevida distintas (PEROU et al., 2000; HARBECK et al., 2019). Segundo dados do estudo CONCORD-3, a sobrevida global em cinco anos para câncer de mama pode variar de 50% a mais de 90% a depender do país, acesso ao tratamento e estágio ao diagnóstico (ALLEMANI et al., 2018).

Nos últimos anos, biomarcadores inflamatórios, como RDW, RPR, razão N/L e interleucinas, vêm sendo explorados como variáveis prognósticas em modelos de análise de sobrevida global no câncer de mama (XU et al., 2022; CHEN_b et al., 2015). Essas variáveis, acessíveis e de baixo custo, têm sido associadas a um pior prognóstico em pacientes com tumores mais agressivos ou doença metastática. Além disso, a incorporação de dados moleculares e genômicos, como painéis multigênicos (Oncotype DX, MammaPrint), tem ampliado o poder preditivo dos modelos de sobrevida (PICCART et al., 2016).

A análise de sobrevida global também tem papel central no desenvolvimento de estratégias de medicina personalizada, ao permitir a estratificação de risco e orientar condutas terapêuticas baseadas na probabilidade individual de desfecho adverso. Tais abordagens favorecem a tomada de decisão clínica mais eficaz, otimizando o balanço entre benefícios e riscos das intervenções (SPARANO et al., 2018).

Dessa forma, a análise de sobrevida global representa uma ferramenta crucial tanto para a pesquisa científica quanto para a prática clínica em oncologia. Ao considerar a complexidade biológica do câncer de mama e os múltiplos fatores que influenciam a sobrevida, sua aplicação permite uma compreensão abrangente do prognóstico, contribuindo para o avanço de abordagens diagnósticas e terapêuticas mais eficientes e individualizadas.

3 OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a aplicabilidade clínica de abordagens complementares para o diagnóstico e o prognóstico do câncer de mama, investigando a utilidade de perfis obtidos a partir de fluidos biológicos e biomarcadores inflamatórios sistêmicos e imunológicos, bem como suas correlações com características clínico-patológicas e com a sobrevida global de mulheres com câncer de mama, incluindo casos avançados.

Objetivos específicos

- Descrever as características clínico-patológicas-hormonais das pacientes com câncer de mama, inclusive casos avançados, e doença benigna da mama;
- Mensurar grupos funcionais dos constituintes séricos e salivares tumorais a partir da técnica de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR);
- Identificar diferenças bioquímicas entre os fluidos soro e saliva de mulheres com câncer de mama, doença benigna da mama e controles saudáveis;
- Realizar análise intragrupos e intergrupos dos resultados espectrais;
- Determinar e avaliar possíveis marcadores biológicos com a finalidade diagnóstica, prognóstica e de monitoramento das neoplasias mamárias e de sua terapêutica;
- Verificar a associação entre RDW, RPR, N/L, L/M, IL-1BETA, IL-6 e IL-10, com a sobrevida global de pacientes com câncer de mama avançado;
- Avaliar os potenciais biomarcadores inflamatórios sistêmicos RDW, RPR, N/L, L/M, IL-1BETA, IL-6 e IL-10 para o prognóstico das pacientes com câncer de mama avançado.

4 RESULTADOS

ARTIGO 1. “Comparative spectral analysis of blood and saliva in breast cancer, benign breast disease and healthy controls using ATR-FTIR”

O artigo foi submetido na revista *Scientific Reports*, fator de impacto 3.9

COMPARATIVE SPECTRAL ANALYSIS OF BLOOD AND SALIVA IN BREAST CANCER, BENIGN BREAST DISEASE AND HEALTHY CONTROLS USING ATR-FTIR

Lara de Andrade Marques^{a,b}, Alinne Tatiane Faria Silva^c, Izabella Cristina Costa Ferreira^{a,b}, Letícia Lopes Dantas Santos^{a,b}, Juliana Carvalho Penha Pereira^{a,d}, Donizeti William Santos^d, Carlos Eduardo Paiva^c, Yara Cristina de Paiva Maia^{a,b*}

^a Molecular Biology and Nutrition Research Group, School of Medicine, Graduate Program in Health Science, Federal University of Uberlandia (UFU), Av. Amazonas sn, Block 2E, 2° Floor, Room 210, Campus Umuarama, Uberlandia 38405-320, Minas Gerais, Brazil.

^b Laboratory of Nanobiotechnology Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho, Institute of Biotechnology, Federal University of Uberlandia (UFU), Av. Amazonas sn, Block 2E, 2° Floor, Room 248, Campus Umuarama, Uberlandia 38405-302, Minas Gerais, Brazil

^c Learning and Research Institute, Barretos Cancer Hospital, R. Antenor Duarte Vilela, 1331, Doutor Paulo Prata, Barretos 14784-400, Sao Paulo, Brazil

^d Obstetric Division, University Hospital, Federal University of Uberlandia (UFU), Av. Pará, 1720, Block 2H, Campus Umuarama, Uberlandia 38405-320, Minas Gerais, Brazil

*Corresponding author: Yara Cristina de Paiva Maia: yara.maia@ufu.br

Abstract

Breast cancer (BC) ranks among the most prevalent tumors affecting women. This research explores the ability of Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) to identify different biochemical elements found in bodily fluids such as serum and saliva from individuals with BC, individuals with benign breast disease (BBD), and healthy individuals. A cross-sectional analysis was performed on samples from 73 participants, comprising 31 with BC, 18 with BBD, and 24 healthy subjects, to examine biochemical differences across the groups. The findings indicated that the levels of the biochemical elements nucleic acids, proteins, lipids and glycogen significantly differed among the fluids. Specifically, the wavenumber of 2930 cm⁻¹ in saliva was capable of statistically differentiating BC patients from BBD patients and healthy controls. In the serum samples, a significant difference was observed at 1295 cm⁻¹ (p = 0.0014). However, serum collection has some disadvantages such as

invasiveness and the need for trained personnel. Wavenumbers in saliva have emerged as potential breast cancer biomarkers, suggesting that this approach could serve as a valuable, noninvasive method and readily available option for breast cancer screening. ATR-FTIR spectroscopy has the potential to pave the way for the investigation of more efficient and less invasive clinical diagnostic methods.

Keywords: Biomarkers; DNA fingerprinting; Nucleic acids; Lipids; Serum; Saliva.

Introduction

Breast cancer (BC) is one of the most frequently occurring cancers in women worldwide [1]. It is a complicated and diverse illness resulting from multiple factors and necessitates more thorough monitoring strategies or alternative screening methods [2, 3]. As per the World Health Organization, 2.3 million cases were diagnosed and 670,000 fatalities were occurred globally in 2022 [1].

BC screening tests have two primary benefits: prompt detection and the chance to initiate appropriate therapy [1]. Initial methods for diagnosis include magnetic resonance imaging, mammography, and ultrasound [4, 5]. Mammography remains the gold standard for population-based breast cancer screening, as it allows early detection and reduces mortality [6], however, its sensitivity may be reduced in women with dense breasts, and false-positive and false-negative findings are well-recognized limitations that can lead to unnecessary additional imaging or biopsies [7, 8]. Ultrasound is often used as a complementary modality, particularly in the assessment of dense breast tissue and in specific clinical contexts, although it may present limited specificity [6]. Moreover, practical limitations such as the costs involved, need for specialized infrastructure and trained personnel, and patient discomfort or anxiety may restrict access to these imaging modalities in some healthcare settings. The definitive method for diagnosing the disease is histopathology, which requires a breast tissue biopsy, a costly and invasive procedure that can cause pain and anxiety in patients [9, 10]. To avoid unnecessary biopsies, alternative tools capable of analyze the physicochemical composition of biological fluids in a fast, simple, less invasive, accessible, and low-cost way are needed, contributing to public health.

Serum and saliva, two biological fluids, can be used to evaluate patients with BC. Cancer induces multiple systemic and local biochemical alterations that can be reflected in changes in

the molecular composition of circulating and secreted biofluids [11]. Serum, the liquid portion of blood remaining after clotting, is devoid of blood cells and clotting factors. It contains a diverse range of molecules and is maintained within a narrow pH range of 7.35-7.45 to ensure proper metabolic function. It serves as a transport medium for essential components such as nutrients, respiratory gases, hormones, and waste products [12, 13]. Conversely, saliva, which is created by the salivary glands, is mostly made up of water, making up approximately 98% of its total composition. Its pH ranges from 6.2-7.6, facilitating the initial digestion of food, lubrication, swallowing, protection of the oral mucosa, maintenance of oral health and regulation of oral pH [14, 15].

These biochemical differences between serum and saliva are crucial for understanding the distinct physiological functions of each biofluid, as they reflect the specific biochemical composition and environmental demands of their respective systems. Furthermore, the comparison between these two fluids helps to assess whether saliva can be a valid alternative or a complement to blood-based (serum) liquid biopsy, since it is a truly non-invasive option. To evaluate the physicochemical properties of biological molecules in such fluids, Attenuated Total Reflection Spectroscopy - Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) is particularly suitable. This vibrational spectroscopic technique probes the molecular bond vibrations and provides a comprehensive biochemical fingerprint of complex biological matrices. In biofluids, characteristic infrared absorptions arise from major molecular classes, proteins, lipids, nucleic acids, and carbohydrates/glycoconjugates, each contributing distinct spectral features. Because serum and saliva differ in the relative abundance and composition of these classes (e.g., higher total protein in serum and greater mucin/glycoconjugate content in saliva), their ATR-FTIR spectra display distinct and comparable patterns that reflect their biochemical environments. The technique offers multiple advantages: it is rapid, label-free, reagent-free, highly reproducible, automated, cost-effective, and requires only microliter sample volumes with minimal preparation, as the sample is directly placed in contact with the crystal surface [7, 16 – 21].

Previous studies have utilized ATR-FTIR spectroscopy to identify breast cancer by examining blood samples [11, 22], and researchers from our group have applied this technique to analyze saliva samples for the detection of disease-related biochemical alterations [23]. In a previous study [23], we demonstrated through receiver operating characteristic (ROC) curve analysis that salivary biomarkers can accurately differentiate patients with BC from those with benign conditions and healthy controls. That investigation involved a smaller cohort (30 women) and

employed freeze-dried saliva, a method requiring longer preparation times in the laboratory. The present study, in contrast, simplifies sample processing and includes a larger cohort (73 women).

Building upon previous work, the current study advances the field by providing a direct, of two biological fluids, serum and saliva, within group patient comparison, using ATR-FTIR spectroscopy. To our knowledge, this is the first study to simultaneously evaluate serum and saliva from the same breast cancer population, to elucidating the physicochemical differences between these fluids among patients with breast cancer, benign breast disease, and healthy controls. We investigated the hypothesis that serum and saliva, when from the same individual, exhibit an inherently distinct molecular signature, detectable by ATR-FTIR. The present study aimed to compare serum and saliva from patients with breast cancer, benign breast disease, and healthy controls via ATR-FTIR spectroscopy and to elucidate the physicochemical differences between these biological fluids within the same set of patients.

Methods

Study Design, Sample Size and Eligibility Criteria

This research conducted a cross-sectional analysis at a clinical hospital located in Uberlandia, MG, Brazil, following approval by the Human Research Ethics Committee of the Federal University of Uberlandia (CAAE 31626620.2.0000.5152) and adhering to the standards of the Declaration of Helsinki and Resolution CNS 466/12. The study included 73 volunteer participants who signed an informed consent form. Women diagnosed with breast cancer (BC group, $n = 31$), confirmed by anatomopathological examination, were included. Additionally, women who, after surgery, were diagnosed with atypical ductal hyperplasia, papilloma, fibroadenoma or other benign breast diseases (BBDs), confirmed by anatomopathological examination, composed the BBD group ($n = 18$). The healthy control group comprised women without any family history of BC who had undergone breast mammography or ultrasound examination within one year before data collection, and their results were classified as bilateral BIRADS 1 ($n = 24$). The exclusion criteria included being younger than 18 years, having primary tumors located outside of the breast, and possessing any physical or mental limitations that would prevent them from answering the data collection tools effectively.

Sample collection

The data were obtained through interviews, analysis of medical records and biological samples collection (serum and saliva), which were performed at 5:30 am while the patient fasted. This data collection was carried out from June 2021 to October 2023.

For serum collection, a 5 mL vacuum tube containing separating gel with a clot activator was used. After collection, 5 mL samples were centrifuged at $2500 \times g$ at 22°C for 15 minutes, following the manufacturer's instructions (KASVI®, São José dos Pinhais, PR, Brazil).

Unstimulated saliva was collected via the spitting method. The participants were instructed to sit comfortably with their eyes open, tilt their heads slightly forward, and rest for 5 minutes, minimizing orofacial movements. Saliva accumulated on the floor of the mouth and then spat into the 15 mL centrifuge tube every 60 seconds until a total of 2 mL was collected [24, 25]. The samples were subsequently centrifuged at $3000 \times g$ at 4°C for 20 minutes [26].

Demographic information, such as age, previous illnesses, family history of breast cancer, smoking, alcohol consumption habits, practice of physical activity, menarche and menopause, was collected from medical records.

Clinical pathological aspects

Clinical and hormonal information, such as tumor subtype (ductal carcinoma or lobular carcinoma), clinical stage, histological grade, molecular subtype and treatment (radical mastectomy, conservative surgery, needle biopsy), was collected from medical records.

The cancer classification called tumor–node–metastasis (TNM), recognized by the American Joint Committee on Cancer (AJCC) and the International Union for Cancer Control (UICC), was utilized in this research. This system evaluates the size of the main tumor (T), the involvement of nearby lymph nodes (N), and any spread to distant sites (M), allowing for staging according to T, N, and M [27].

Following surgery and histopathological results, tumors, tissues, and lesions were classified on the basis of their histological type, stage, and presence of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR) and HER2 receptors.

ATR-FTIR spectroscopy of serum and saliva samples

Infrared spectroscopy is a type of vibrational spectroscopy that relies on the movements of a molecule's atoms. FTIR spectroscopy is a specific form of infrared spectroscopy that examines how electromagnetic waves are absorbed in the mid-infrared range ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) [28]. This method operates on the principle of radiation interference between two beams, which produces an interferogram, a signal that changes on the basis of the varying distance between the two beams. The radiation originating from the source passes through an interferometer, which incorporates both a stationary mirror and a movable mirror, before it reaches the sample and then a detector. After the signal is amplified, with high-frequency components removed by a filter, the information is converted into digital format via an analog-to-digital converter and sent to the computer for Fourier transformation [29].

Infrared spectroscopy was conducted via an Agilent Cary 630 Series FTIR spectrometer located at the Laboratory of Nanobiotechnology, Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho. The spectra were examined within the wavenumber range of 650 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} , utilizing a resolution of 4 cm^{-1} and conducting 128 scans, employing the attenuated total reflection (ATR) sampling method. Prior to the analysis of each sample, the spectrum of air served as a background. For the serum samples, $1\text{ }\mu\text{L}$ of each sample was deposited on the surface of the ATR crystal and dried at $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 5 min to eliminate excess water. For the saliva samples, $3\text{ }\mu\text{L}$ of each sample was deposited onto the surface of the ATR crystal and dried at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 15 minutes to eliminate excess water [30]. Each sample was analyzed in triplicate.

Spectral Data Preprocessing

The initial FTIR spectra were normalized (vector normalization) and baseline corrected (Baseline Type: Linear / Peak Direction: Positive / Background action: Subtract / Three points were selected: 2158 cm^{-1} , 2364 cm^{-1} , and 3856 cm^{-1}), and a standard deviation of 0.5 was chosen for Gaussian smoothing to obtain a suitably effective smoothing result. Following this analysis, two samples presented absorbance values that significantly deviated from the group average and were therefore excluded after preprocessing. Orange Data Mining software v. 3.36.1 [31] was utilized for this purpose.

The Savitzky–Golay technique was used to create the second derivative spectra from the initial spectra. This strategy emphasizes particular spectral features of the bands, clarifies overlapping

bands, and improves analytical precision by revealing the true biochemical characteristics. The arrangements were set with a polynomial order of 2 and a window size of 11 points. The second derivative produces negative peaks (valleys); therefore, the analyzed wavenumbers in the second derivative represent the depths of these valleys.

Statistical analysis

The Shapiro-Wilk normality test was initially performed to assess the distribution of the data. For normally distributed variables, means were compared using the unpaired t-test. For variables that did not follow a normal distribution, the Mann-Whitney test was used to compare the means. One-way ANOVA was used to compare group means and verify statistically significant differences. A p-value of less than 0.05 (two-tailed) was considered indicative of a significant difference. All analyses were conducted using GraphPad Prism version 5.00 (GraphPad Software, San Diego, California, USA).

Results

Characterization of the Study Population

The study included 73 participants: 31 women diagnosed with breast cancer (BC), 18 women diagnosed with benign breast disease (BBD), and 24 healthy controls. Table 1 outlines the demographic features of the groups involved in the study. The BC, BBD, and healthy control groups presented mean ages of 54.35 years (range 33-87, \pm SD 14.784), 55.33 years (range 34-75, \pm SD 11.877) and 49.83 years (range 33-71, \pm SD 07.828), respectively. One-way ANOVA revealed significant differences between groups for history of previous disease ($p = 0.0108$) and family history of breast cancer ($p = 0.0162$).

The clinical and histopathological characteristics of the study participants with BC are presented in Table 2. The most frequent types of BBD were fibrocystic breast changes ($n = 7$), ductal hyperplasia ($n = 5$), fibroadenoma ($n = 5$), adenosis ($n = 3$), fibrosis ($n = 3$), microcalcifications ($n = 2$), intraductal papilloma ($n = 2$), duct ectasia ($n = 1$), cysts ($n = 1$), acute inflammation ($n = 1$) and apocrine metaplasia ($n = 1$). The same patient may have had more than one type.

FTIR spectra

In the fingerprint region (900 cm^{-1} to 1800 cm^{-1}) and in the region from 2800 to 3050 cm^{-1} , the wavenumbers were selected at the maximum point of each peak. In the serum, the peaks were observed at 1077 cm^{-1} , 1163 cm^{-1} , 1247 cm^{-1} , 1295 cm^{-1} , 1403 cm^{-1} , 1448 cm^{-1} , 1534 cm^{-1} , 1640 cm^{-1} , 1737 cm^{-1} , 2864 cm^{-1} , 2928 cm^{-1} , 2930 cm^{-1} , and 2959 cm^{-1} , whereas in the saliva, they were observed at 1070 cm^{-1} , 1241 cm^{-1} , 1295 cm^{-1} , 1407 cm^{-1} , 1541 cm^{-1} , 1644 cm^{-1} , 2930 cm^{-1} , and 2969 cm^{-1} . The second derivative spectra were examined, as this approach can reveal extra vibrational modes that offer further insights.

Intragroup spectrum analysis - Breast Cancer x Benign Breast Disease

Serum and saliva spectral absorptions among patients with BC ($n = 31$) and BBD ($n = 18$) were analyzed (total $n = 49$). The mean values of the original serum infrared spectra for every group can be seen in Figure 1A. It can be noted that the mean values are nearly identical for both groups, except where there is a lack of mean overlap, and the standard deviation encompasses the differences. The mean values of the second derivative can be seen in Figure 1B. The chosen wavenumbers revealed no meaningful difference between the groups from a statistical standpoint.

The mean values of the original saliva infrared spectra for every group can be seen in Figure 2A. Importantly, the wavenumbers are nearly identical for both groups, with no clear differences. For the second derivative spectra analysis (Figure 2B), the peak at 2930 cm^{-1} was statistically significant ($p = 0.0391$), corresponding to C-H stretching vibration, mainly attributed to lipids [32, 33]. Interestingly, at this same wavenumber (2930 cm^{-1}), the serum samples were not able to differentiate BC from BBD, whereas in saliva, the difference was statistically significant ($p = 0.0391$).

Intragroup spectrum analysis: Breast Cancer x Healthy Controls

Serum and saliva spectral absorptions among patients with BC ($n = 31$) and healthy controls ($n = 24$) were analyzed (total $n = 55$). The mean values of the original serum infrared spectra for every group can be seen in Figure 3A. Importantly, the wavenumbers for BC and BBD overlapped less than those for BC and BBD, as shown in Figure 1A. Figure 3B presents the

second derivative spectra for the same groups, and when each peak was examined, the wavenumber at 1295 cm^{-1} was significantly different ($p = 0.0014$), which is related to the C4–NH₂ stretching of cytosine (nucleic acids) [34].

The mean values of the original saliva infrared spectra for every group can be seen in Figure 4A, and the second derivative spectra analysis can be seen in Figure 4B. The results revealed statistically significant differences at four wavenumbers in the second derivative spectra: 1241 cm^{-1} ($p = 0.0007$), corresponding to PO_2^- phosphate from nucleic acids [35]; 1541 cm^{-1} ($p = 0.0068$), corresponding to amide II from protein [36]; 1644 cm^{-1} ($p = 0.0050$), corresponding to amide I, C=O stretching vibration of the peptide from protein [37]; and 2930 cm^{-1} ($p = 0.0001$), corresponding to C–H stretching from lipids [32, 33].

Therefore, our findings indicate that the peak at 2930 cm^{-1} in the saliva samples was the only spectral region that showed statistically significant differences across all three groups, breast cancer (BC), benign breast disease (BBD), and healthy controls. This wavenumber, associated primarily with C–H stretching vibrations of lipids [32, 33], appears to reflect biochemical alterations common to breast pathology, enabling discrimination among the different clinical conditions evaluated.

Intergroup spectrum analysis

Among the samples from the three groups (breast cancer, benign breast disease and healthy controls) (Figure 5 and Table 3), in the regions from $\sim 1000\text{ cm}^{-1}$ to $\sim 1200\text{ cm}^{-1}$, corresponding to glycoproteins, polysaccharides, carbohydrates [38, 39], phosphate of RNA/DNA nucleic acids [35, 40] and glycogen [23], the average absorbances are much greater in saliva than in serum. There was particular emphasis on the wavenumber 1077 cm^{-1} (BC $p < 0.0001$, BBD $p = 0.0002$, control $p = 0.0008$), which was statistically significant in all three groups. Beyond the wavenumber of 1163 cm^{-1} , there was a peak in the serum and a declining trend in the saliva (BC $p < 0.0001$, BBD $p = 0.0010$, control $p = 0.0030$).

In the wavenumbers from $\sim 1200\text{ cm}^{-1}$ to $\sim 1330\text{ cm}^{-1}$, where nucleic acid expression [41], amide III from proteins [23] and glycoproteins, polysaccharides, carbohydrates [38, 39], are reported, serum shows a peak, whereas saliva shows a valley. Wavenumbers 1241 cm^{-1} corresponds to phosphate, PO_2^- from nucleic acids [35], and 1295 cm^{-1} corresponds to the C4–NH₂ stretching

of cytosine (nucleic acids) [34], which were statistically significant in all three groups (BC, BBD and control $p < 0.0001$).

In the regions where lipid expression is reported, between wavenumbers of $\sim 1330\text{ cm}^{-1}$ to $\sim 1475\text{ cm}^{-1}$ [23, 33], the average absorbance of saliva is greater than that of serum. The wavenumber at 1407 cm^{-1} was statistically significant in all three groups (BC, BBD, and control $p < 0.0001$), and the wavenumber at 1448 cm^{-1} was not significantly different in the BBD group (BC $p < 0.0001$, BBD $p = 0.0290$ and control $p < 0.0001$).

For amides ($\sim 1475\text{ cm}^{-1}$ to $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$) [36, 42, 43], the average absorbance of proteins in saliva is much lower than that in serum. Three wavenumbers were analyzed, and the results revealed significant differences across all three groups: 1534 cm^{-1} (BC, BBD, and control, $p < 0.0001$), 1541 cm^{-1} (BC, BBD and control, $p < 0.0001$) and 1640 cm^{-1} (BC and BBD, $p < 0.0001$, control $= 0.0012$).

The average absorbance is greater in saliva than in serum in the regions from $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ to $\sim 1800\text{ cm}^{-1}$, which corresponds to lipid expression [33]. The wavenumber at 1737 cm^{-1} was statistically significant among the three groups (BC and BBD $p < 0.0001$, control $p = 0.0082$).

From 2800 cm^{-1} to 3050 cm^{-1} , where nucleic acid and lipid expression are reported [23, 33], the average absorbance is greater in saliva than in serum. Wavenumbers of 2864 cm^{-1} (BC, BBD and control $p < 0.0001$) and 2959 cm^{-1} (BC and BBD $p < 0.0001$, control $p = 0.0082$) were statistically significant in all three groups. Wavenumber 2930 cm^{-1} , corresponding to C-H stretching from lipids [32, 33], can be used to differentiate the three groups studied in saliva samples (BC, BBD, and healthy control), but it was not significantly different in the control group (BC and BBD $p < 0.0001$, control $p = 0.2300$).

Discussion

In this study, we compared the serum and saliva of patients with breast cancer, benign breast disease, and healthy controls via ATR-FTIR spectroscopy. The results demonstrate that the biochemical components of these fluids, such as lipids, nucleic acids, proteins and glycogen, manifest in different ways depending on the biological sample investigated. Specifically, the comparison of saliva between the breast cancer patients and healthy controls suggested that saliva may serve as a potential assessment tool for assessing breast diseases. Notably, the

wavenumbers at 1241 cm^{-1} , 1541 cm^{-1} , 1644 cm^{-1} and 2930 cm^{-1} were statistically significant in distinguishing between these groups.

Knowing the similarities and differences between serum and saliva is crucial for clinical diagnosis. Serum is the standard fluid for many diagnostic tests, such as measurements of glucose, cholesterol, hormones, and markers of infection or inflammation [14, 15]. The fact that this study revealed more pronounced differences in saliva positively influences clinical practice, as saliva offers a noninvasive alternative for sample collection, which is particularly advantageous in situations such as the monitoring of chronic diseases, for example, cancer, or for patients who cannot easily provide blood samples [44].

In the intergroup comparison, in the region between $\sim 1000\text{ cm}^{-1}$ and $\sim 1200\text{ cm}^{-1}$, the absorption wavenumbers mainly correspond to vibrations of glycoproteins, polysaccharides, and carbohydrates, which are particularly abundant in saliva due to its high mucin content [38, 39]. Therefore, the greater absorbances observed in saliva compared with serum in this spectral range likely reflect biochemical differences in mucin and glycoprotein composition, rather than a direct indication of nucleic acid phosphate vibrations.

In the region between $\sim 1200\text{ cm}^{-1}$ and $\sim 1330\text{ cm}^{-1}$, where nucleic acid [41], amide III from proteins [23] and glycoproteins, polysaccharides, and carbohydrates [38, 39] vibrations have been reported, serum spectra presented higher average absorbances than saliva. When the intragroup comparison between BC and control groups was performed, significant differences were observed at 1295 cm^{-1} ($p = 0.0014$) and 1241 cm^{-1} ($p = 0.0007$) for serum and saliva, respectively. These differences are believed to be due to two situations: genetic mutations and/or the presence of cell-free DNA (cfDNA). Genetic changes (mutations) related to malignant transformation are basically of four types: 1) changes in the nucleotide sequence (substitution of pairs of nitrogenous bases, mistaken pairing of nitrogenous bases, deletions or insertions); 2) cytogenetic deviations in the number of diploid chromosomes; 3) chromosomal rearrangements (translocation), with segments of the same chromosome or another; and 4) amplification, with the production of multiple copies of the same gene [45]. Importantly, the nitrogenous bases and cfDNA are also related. Abnormal methylation in nitrogenous bases regions can be detected in circulating cfDNA, including in patients with breast cancer [46, 47]. But, these findings should be interpreted with caution, as they may represent overlapping biochemical contributions from multiple macromolecules, including glycoproteins, carbohydrates, and phosphate groups, rather than direct detection of circulating cfDNA.

Considering that cfDNA concentrations in biological fluids are extremely low, the corresponding infrared absorption wavenumbers are expected to be weak. Thus, the observed peaks likely result from the combined spectral signatures of complex biomolecular components present in the fluids, rather than the isolated contribution of nucleic acids.

In the region from $\sim 1475\text{ cm}^{-1}$ to $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$, which corresponds to the expression of amides [36, 42, 43], in intergroup comparison, the average absorbance in saliva is much lower than the absorbance in serum and is related to the protein composition and functions of these two body fluids. Serum contains a much higher concentration of amides than saliva does because it plays a role in the transport of substances, maintaining osmotic pressure and the immune response. Proteins in serum are rich in peptide bonds, which are responsible for the amide I, II and III peaks observed via spectroscopic analysis. On the other hand, saliva has more specific and localized functions, such as initiating digestion through enzymes such as salivary amylase and protecting the oral cavity against microorganisms [48 – 51]. This high amount of protein in the serum compared with that in the saliva may have been responsible for the significant differences in the intragroup comparisons, BC and control, in the saliva (1541 cm^{-1} ($p = 0.0068$) and 1644 cm^{-1} ($p = 0.0050$)) and "masking" the results in the serum.

In the regions between wavenumbers $\sim 1330\text{ cm}^{-1}$ to $\sim 1475\text{ cm}^{-1}$, $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ to $\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ and $\sim 2800\text{ cm}^{-1}$ to $\sim 3050\text{ cm}^{-1}$, where there are reports of the expression of lipids [23, 33], in intergroup comparisons, the average absorbance of saliva is greater than that of serum. Special emphasis was placed on the wavenumber 2930 cm^{-1} , which, in the intragroup comparison, differentiated the three groups (BC, BBD and healthy control) in saliva, and this same wavenumber in the serum samples was not able to be used to differentiate the groups. This result corroborates the results obtained when saliva was compared with serum intergroups and revealed no significant difference in the control group (BC and DDB $p < 0.0001$, control $p = 0.2300$), suggesting that this biomarker may be associated with specific breast pathology processes. It is known that there is a need to increase lipid metabolism tumor progression during the cell proliferation process, primarily because lipids are essential components of the cell membrane [52]. Furthermore, the fundamental role of lipid metabolism in metastasis formation has been demonstrated [53].

The limitations of this study include the relatively small sample size and the heterogeneity of the subgroups of breast cancer, particularly regarding breast cancer phenotypes and disease stages. As this is an exploratory study, the results should be interpreted as preliminary, aiming

to demonstrate the feasibility of using ATR-FTIR spectroscopy to compare serum and saliva spectra from the same patient population, rather than to establish definitive thresholds. The individual variability in the infrared spectra of biological fluids may have influenced the statistical power of the analyses. Furthermore, future studies with larger, multicentric cohorts could integrate chemometric approaches to validate and expand upon the spectral differences observed in this study. Nonetheless, this approach enabled the identification of specific wavenumbers of potential relevance, which can serve as targets for validation in future studies. Despite these limitations, this study provides valuable insights and opens new avenues for research, marking the first simultaneous evaluation of serum and saliva from the same breast cancer cohort, benign breast disease and healthy controls, using ATR-FTIR spectroscopy.

In conclusion, this research demonstrated the ability of ATR-FTIR spectroscopy to differentiate between biological fluids. The analyses revealed that biochemical components, such as proteins, lipids and nucleic acids, present distinct variations in the serum and saliva of patients with breast cancer, benign breast diseases and healthy controls. These findings are particularly relevant because saliva collection is a less invasive, low-cost and practical method that facilitates the monitoring of chronic diseases, such as cancer; promotes advances in the management of breast diseases; and contributes to public health with accessible and less invasive alternatives.

Data availability

The datasets generated during and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author upon reasonable request.

References

- [1] World Health Organization, Breast cancer. (2025). Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer#:~:text=Key%20facts,out%20of%20185%20in%202022> (accessed 09 November 2025).
- [2] Castells, X. et al. Breast cancer risk after diagnosis by screening mammography of non proliferative or proliferative benign breast disease: a study from a population-based screening

- program. *Breast Cancer Res Treat.* **149**, 237-244 (2015). <https://doi.org/10.1007/s10549-014-3208-z>
- [3] Román, M. et al. Breast density, benign breast disease, and risk of breast cancer over time. *Eur. Radiol.* **31**, 4839-4847 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00330-020-07490-5>
- [4] Iranmakani, S. et al. A review of various modalities in breast imaging: technical aspects and clinical outcomes. *Egypt J Radiol Nucl Med.* **51**, 1-22 (2020). <https://doi.org/10.1186/s43055-020-00175-5>
- [5] Bagchi, A., Pramanik, P., Sarkar, R. A multistage approach to breast cancer classification using histopathology images. *Diagnostics.* **13**, 126-149 (2023). <https://doi.org/10.3390/diagnostics13010126>
- [6] Drukteinis, J.S., Mooney, B.P., Flowers, C.I., Gatenby, R.A. Beyond mammography: new frontiers in breast cancer screening. *Am J Med.* **126**, 472-479 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2012.11.025>
- [7] Depciuch, J. et al. Application of raman spectroscopy and infrared spectroscopy in the identification of breast cancer. *Appl. Spectrosc.* **70**, 251-263 (2016). <https://doi.org/10.1177/0003702815620127>
- [8] Tirona, M.T. Breast cancer screening update. *Am Fam Physician.* **87**, 274-278 (2013). Available from: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2013/0215/p274.html> (accessed 18 July 2025).
- [9] Sherman, M.E. et al. Benign breast disease and breast cancer risk in the percutaneous biopsy era. *JAMA surg.* **159**, 193-201 (2024). <https://doi.org/10.1001/jamasurg.2023.6382>
- [10] Francies, F.Z., Hull, R., Khanyile, R., Dlamini, Z. Breast cancer in low-middle income countries: abnormality in splicing and lack of targeted treatment options. *Am. J. Cancer Res.* **10**, 1568-1591 (2020). Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7269781/> (accessed 18 July 2025).
- [11] Zelig, U. et al. Early detection of breast cancer using total biochemical analysis of peripheral blood components: a preliminary study. *BMC cancer.* **15**, 1-10 (2015). <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1414-7>

- [12] Siebert, H.C. et al. Blood pH analysis in combination with molecular medical tools in relation to COVID-19 symptoms. *Biomedicines*. **11**, 1421-1447 (2023). <https://doi.org/10.3390/biomedicines11051421>
- [13] Hasegawa, T., Inagaki, K., Haraguchi, H. Multielement correlation analysis of major-to-trace elements in human blood serum for medical diagnosis as studied by ICP–AES and ICP–MS. *Anal. Sci. Suppl.* **17**, i979-i982 (2001). <https://doi.org/10.14891/analscisp.17icas.0.i979.0>
- [14] Humphrey, S.P., Williamson, R.T. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *JPD*. **85**, 162-169 (2001). <https://doi.org/10.1067/mpr.2001.113778>
- [15] Kaufman, E., Lamster, I.B. The diagnostic applications of saliva - a review. *Crit Rev Oral Biol Med*. **13**, 197-212 (2002). <https://doi.org/10.1177/154411130201300209>
- [16] Elkins, K.M. Rapid presumptive “fingerprinting” of body fluids and materials by ATR FT-IR spectroscopy. *J. Forensic Sci.* **56**, 1580-1587 (2011). <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2011.01870.x>
- [17] Simonova, D., Karamancheva, I. Application of transform infrared spectroscopy for tumor diagnosis. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* **27**, 4200-4207 (2013). <https://doi.org/10.5504/BBEQ.2013.0106>
- [18] Bunaciu, A.A., Hoang, V.D., Aboul-Enein, H.Y. Applications of FT-IR spectrophotometry in cancer diagnostics. *CRC*. **45**, 156-165 (2015). <https://doi.org/10.1080/10408347.2014.904733>
- [19] Barth, A. Infrared spectroscopy of proteins. *BBA-BIOENER.* **1767**, 1073-1101 (2007). <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2007.06.004>
- [20] Lima, C.A., Goulart, V.P., Correa, L., Pereira, T.M., Zezell, D.M. ATR-FTIR spectroscopy for the assessment of biochemical changes in skin due to cutaneous squamous cell carcinoma. *Int. J. Mol. Sci.* **16**, 6621-6630 (2015). <https://doi.org/10.3390/ijms16046621>
- [21] Lane, R., Seong, S.S. Attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy method to differentiate between normal and cancerous breast cells. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **12**, 7395-7400 (2012). <https://doi.org/10.1166/jnn.2012.6582>
- [22] Backhaus, J. et al. Diagnosis of breast cancer with infrared spectroscopy from serum samples. *Vib. Spectrosc.* **52**, 173-177 (2010). <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2010.01.013>

- [23] Ferreira, I.C.C. et al. Attenuated total reflection-fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy analysis of saliva for breast cancer diagnosis. *J. Oncol.* 1-11 (2020). <https://doi.org/10.1155/2020/4343590>
- [24] Navazesh, M. Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad Sci.* **694**, 72-77 (1993). <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1993.tb18343.x>
- [25] Kemp, A.P.T. et al. Risk factors for medication-related osteonecrosis of the jaw and salivary IL-6 in cancer patients. *BJORL.* **88**, 683-690 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2020.09.010>
- [26] Sawczuk, B. et al. Salivary gland function, antioxidant defense and oxidative damage in the saliva of patients with breast cancer: does the BRCA1 mutation disturb the salivary redox profile? *Cancers.* **11**, 1501-1523 (2019). <https://doi.org/10.3390/cancers11101501>
- [27] Edge, S.B. et al. *AJCC Cancer Staging Manual (7th Ed)*. New York, NY: Springer. (2010). Available from: <https://www.facs.org/media/kwupoct5/ajcc-7th-ed-cancer-staging-manual.pdf> (accessed 18 July 2025).
- [28] Andrew, C.K.L., Kazarian, S.G. Attenuated total reflection fourier-transform infrared (ATR-FTIR) imaging of tissues and live cells. *Chem Soc Rev.* **45**, 1850-1864 (2016). <https://doi.org/10.1039/C5CS00515A>
- [29] Stuart, B.H. *Biological Applications*. In: (Ed.). *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*: John Wiley & Sons, Ltd, 137-165 (2005). ISBN 9780470011140.
- [30] Martinez-Cuazitl, A. et al. ATR-FTIR spectrum analysis of saliva samples from COVID-19 positive patients. *Sci. Rep.* **11**, 1-14 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99529-w>
- [31] Demsar, J. et al. Orange: data mining toolbox in python. *JMLR.* **14**, 2349–2353 (2013). Available from: <https://jmlr.org/papers/volume14/demsar13a/demsar13a.pdf> (accessed 18 July 2025).
- [32] Banyay, M., Sandbrink, J., Strömberg, R., Gräslund, A. Characterization of an RNA bulge structure by fourier transform infrared spectroscopy. *BBRC.* **324**, 634-639 (2004). <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.09.098>

- [33] Grube, M., Zagreba, E., Gromozova, E., Fomina, M. Comparative investigation of the macromolecular composition of mycelia forms *Thielavia terrestris* by infrared spectroscopy. *Vib. Spectrosc.* **19**, 301-306 (1999). [https://doi.org/10.1016/S0924-2031\(98\)00074-5](https://doi.org/10.1016/S0924-2031(98)00074-5)
- [34] Movasaghi, Z., Rehman, S., Rehman, D.I. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Appl. Spectrosc. Rev.* **43**, 134-179 (2008). <https://doi.org/10.1080/05704920701829043>
- [35] Fagundes, J. et al. Ribosomal DNA nanoprobe studied by fourier transform infrared spectroscopy. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* **118**, 28-35 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.08.057>
- [36] Wood, B.R., Quinn, M.A., Burden, F.R., McNaughton, D. An investigation into FTIR spectroscopy as a biodiagnostic tool for cervical cancer. *Biospectroscopy.* **2**, 143-153 (1996). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6343\(1996\)2:3<143::AID-BSPY1>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6343(1996)2:3<143::AID-BSPY1>3.0.CO;2-9)
- [37] Kumar, S.R., Chaudhary, S.S., Jain, D.C. Vibrational studies of different human body disorders using FTIR spectroscopy. *Open J. Appl. Sci.* **4**, 103-129 (2014). <https://doi.org/10.4236/ojapps.2014.43012>
- [38] Bel'skaya, L.V., Sarf, E.A., Makarova, N.A. Use of Fourier transform IR spectroscopy for the study of saliva composition. *J. Appl. Spectrosc.* **85**, 445-451 (2018). DOI 10.1007/s10812-018-0670-0
- [39] Bel'skaya, L.V., Sarf, E.A., Gundyrev, I.A. Study of the IR spectra of the saliva of cancer patients. *J. Appl. Spectrosc.* **85**, 1076-1084 (2019). DOI 10.1007/s10812-019-00762-z
- [40] Zuluaga-Morales, J.S., Bolaños-Carmona, M.V., Cifuentes-Jiménez, C.C., Álvarez-Lloret, P. Chemical, microstructural and morphological characterization of dentine caries simulation by pH-cycling. *Minerals.* **12**, 1-16 (2021). <https://doi.org/10.3390/min12010005>
- [41] Dong, L. et al. Evaluation of FTIR spectroscopy as diagnostic tool for colorectal cancer using spectral analysis. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* **122**, 288-294 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.11.031>
- [42] Whiteman, S.C., Yang, Y., Jones, J.M., Spiteri, M.A. FTIR spectroscopic analysis of sputum: preliminary findings on a potential novel diagnostic marker for COPD. *Ther. adv. respir. dis.* **2**, 23-31 (2008). <https://doi.org/10.1177/1753465807087972>

- [43] Grdadolnik, J. Saturation effects in FTIR spectroscopy: intensity of amide I and amide II bands in protein spectra. *Acta Chim. Slov.* **50**, 777-788 (2003). <https://acta-arhiv.chem-soc.si/50/50-4-777.pdf> (accessed 18 July 2025).
- [44] Malamud, D. Saliva as a diagnostic fluid. *Dent Clin North Am.* **55**, 159-178 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.cden.2010.08.004>
- [45] Barros, A.C.S.D. Genética e epigenética: bases moleculares da formação inicial do câncer de mama. *Rev. bras. mastol.* **20**, 48-54 (2010). <https://revistamastology.emnuvens.com.br/rbm/article/view/15> (accessed 18 July 2025).
- [46] Tang, Q., Cheng, J., Cao, X., Surowy, H., Burwinkel B. Blood-based DNA methylation as biomarker for breast cancer: a systematic review. *Clin. Epigenetics.* **8**, 1-18 (2016). <https://doi.org/10.1186/s13148-016-0282-6>
- [47] Salta, S.P. et al. A DNA methylation-based test for breast cancer detection in circulating cell-free DNA. *J. Clin. Med.* **7**, 420-435 (2018). <https://doi.org/10.3390/jcm7110420>
- [48] Pink, R. et al. Saliva as a diagnostic medium. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* **153**, 103-110 (2009). <https://doi.org/10.5507/bp.2009.017>
- [49] Pfaffe, T., Cooper-White, J., Beyerlein, P., Kostner, K., Punyadeera, C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. *Clin Chem.* **57**, 675-687 (2011). <https://doi.org/10.1373/clinchem.2010.153767>
- [50] Wang, A., Wang, C.P., Tu, M., Wong, D.T.W. Oral biofluid biomarker research: current status and emerging frontiers. *Diagnostics.* **6**, 1-15 (2016). <https://doi.org/10.3390/diagnostics6040045>
- [51] Psychogios, N. et al. The human serum metabolome. *PloS one.* **6**, 1-23 (2011). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016957>
- [52] Radišauskas, R., Kuzmickienė, I., Milinavičienė, E., Everatt, R. Hypertension, serum lipids and cancer risk: a review of epidemiological evidence. *Medicina (Kaunas).* **52**, 89-98 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.medic.2016.03.002>
- [53] Li, Z.; Kang, Y. Lipid metabolism fuels cancer's spread. *Cell Metab.* **25**, 228-230 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.01.016>

Acknowledgments

This work has been supported by the following Brazilian research agencies: CAPES, CNPq and FAPEMIG.

Author contributions

Lara de Andrade Marques: Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Investigation, Writing - Original Draft

Alinne Tatiane Faria Silva: Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Investigation, Writing - Review & Editing

Izabella Cristina Costa Ferreira: Conceptualization, Methodology, Investigation, Writing - Review & Editing

Letícia Lopes Dantas Santos: Formal analysis, Investigation

Juliana Carvalho Penha Pereira: Investigation

Donizeti William Santos: Investigation

Carlos Eduardo Paiva: Conceptualization, Supervision

Yara Cristina de Paiva Maia: Conceptualization, Methodology, Validation, Writing - Review & Editing, Supervision, Project administration

Additional Information**Competing Interests Statement**

The authors declare that they have no competing interests.

Figure legends

Figure 1 Breast cancer x benign breast disease (serum). Attenuated Total Reflection Spectroscopy - Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) analysis of serum spectra between patients with breast cancer and those with benign breast disease (n = 49). (a) Averages of the original serum infrared spectra for breast cancer and benign breast disease. (b) Average of serum second derivative spectra for breast cancer and benign breast disease.

Figure 2 Breast cancer x benign breast disease (saliva). Attenuated Total Reflection Spectroscopy - Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) analysis of saliva spectra between patients with breast cancer and those with benign breast disease (n = 49). (a) Averages of the original saliva infrared spectra for breast cancer and benign breast disease. (b) Average of saliva second derivative spectra for breast cancer and benign breast disease.

Figure 3 Breast cancer x healthy control (serum). Attenuated Total Reflection Spectroscopy - Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) analysis of serum spectra between the breast cancer group and the healthy control group (n = 55). (a) Averages of the original serum infrared spectra for the breast cancer and healthy control groups. (b) Average serum second derivative spectra for the breast cancer patients and healthy controls.

Figure 4 Breast cancer x healthy control (saliva). Attenuated Total Reflection Spectroscopy - Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) analysis of saliva spectra between the breast cancer group and the healthy control group (n = 55). (a) Averages of the original saliva infrared spectra for the breast cancer and healthy control groups. (b) Average of saliva second derivative spectra for breast cancer patients and healthy controls.

Figure 5 Serum x saliva. Comparison of serum and saliva fluids in samples from breast cancer patients (a), benign breast disease (b) and healthy controls (c).

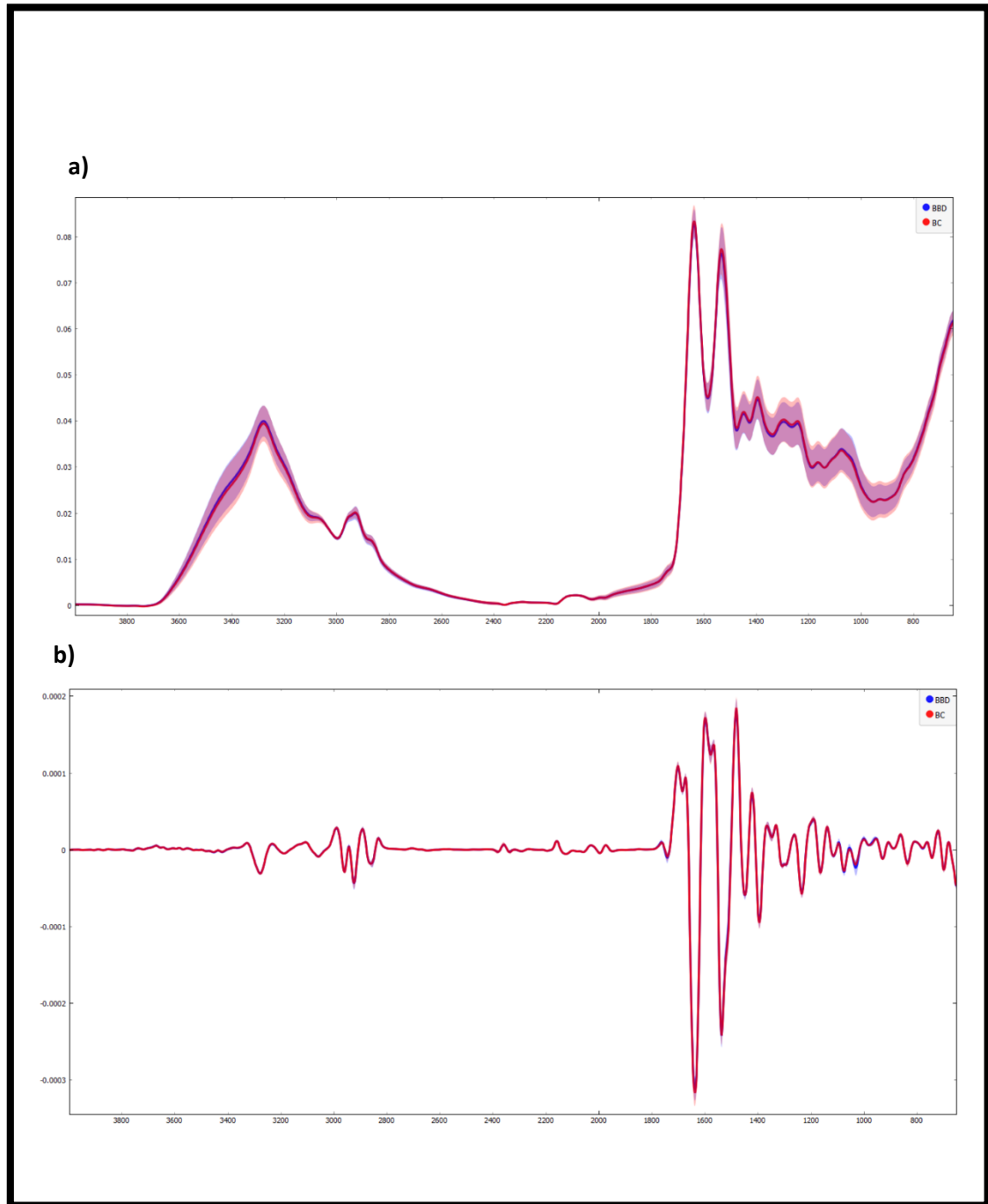
Figure 1

Figure 2

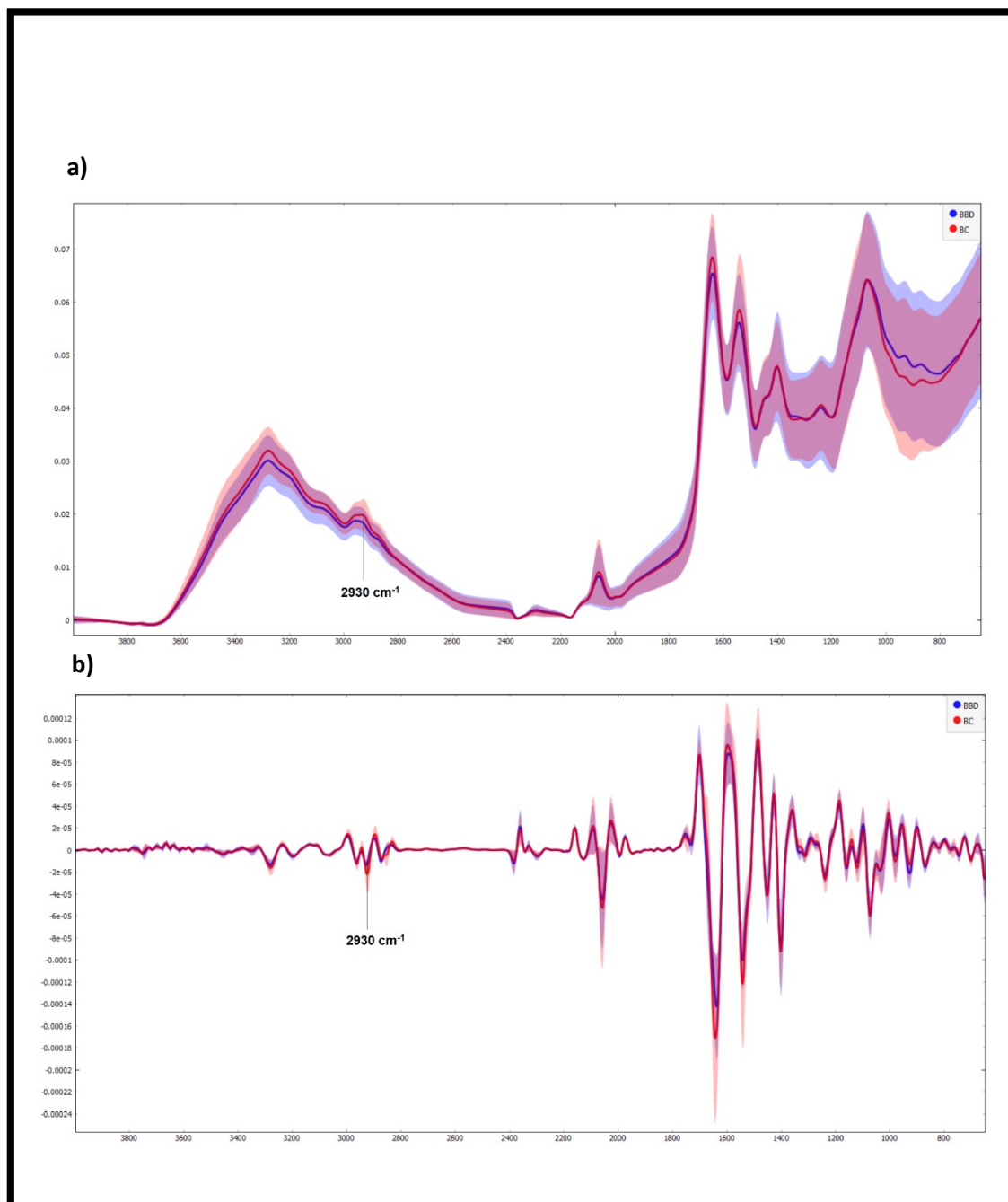


Figure 3

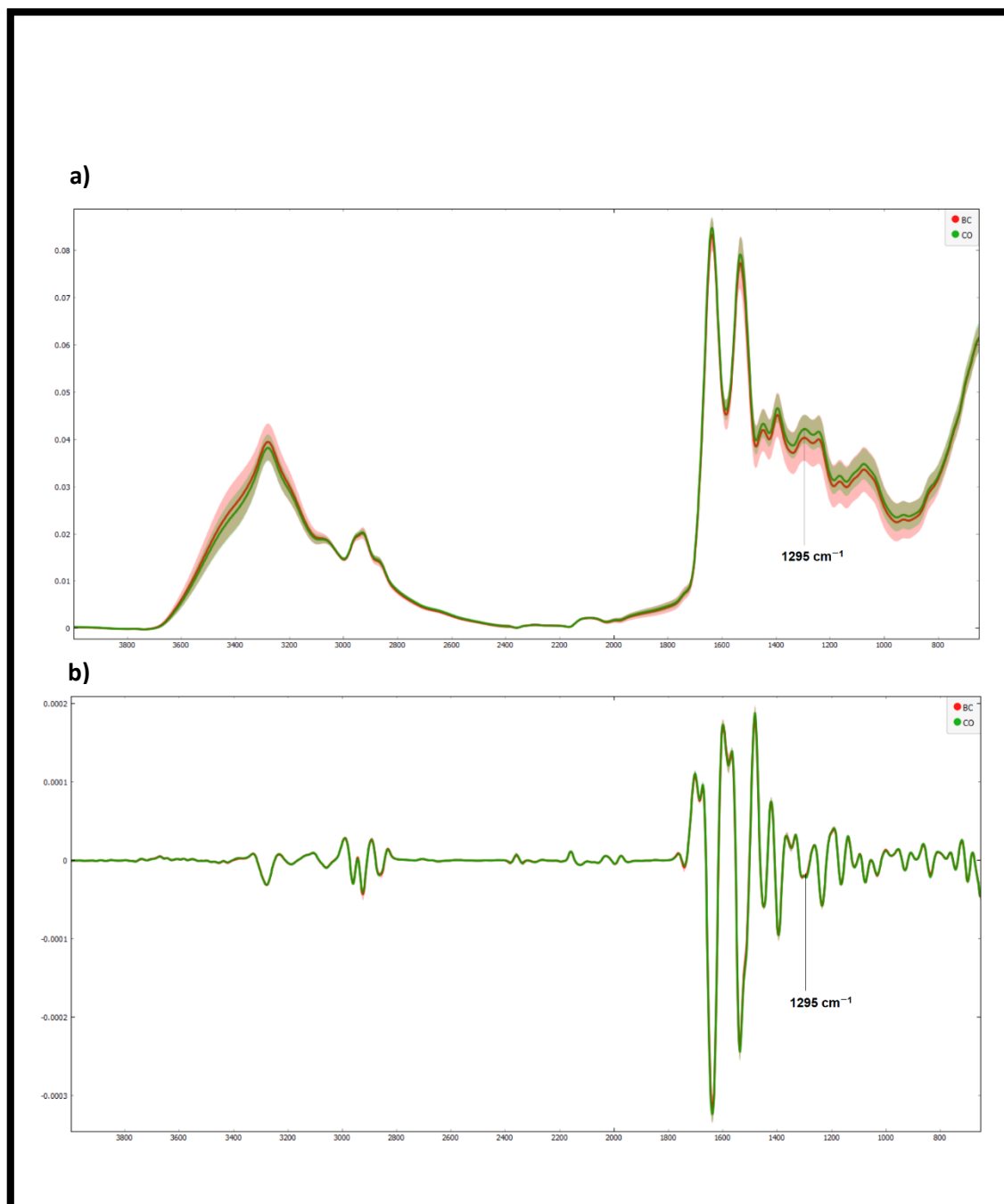


Figure 4

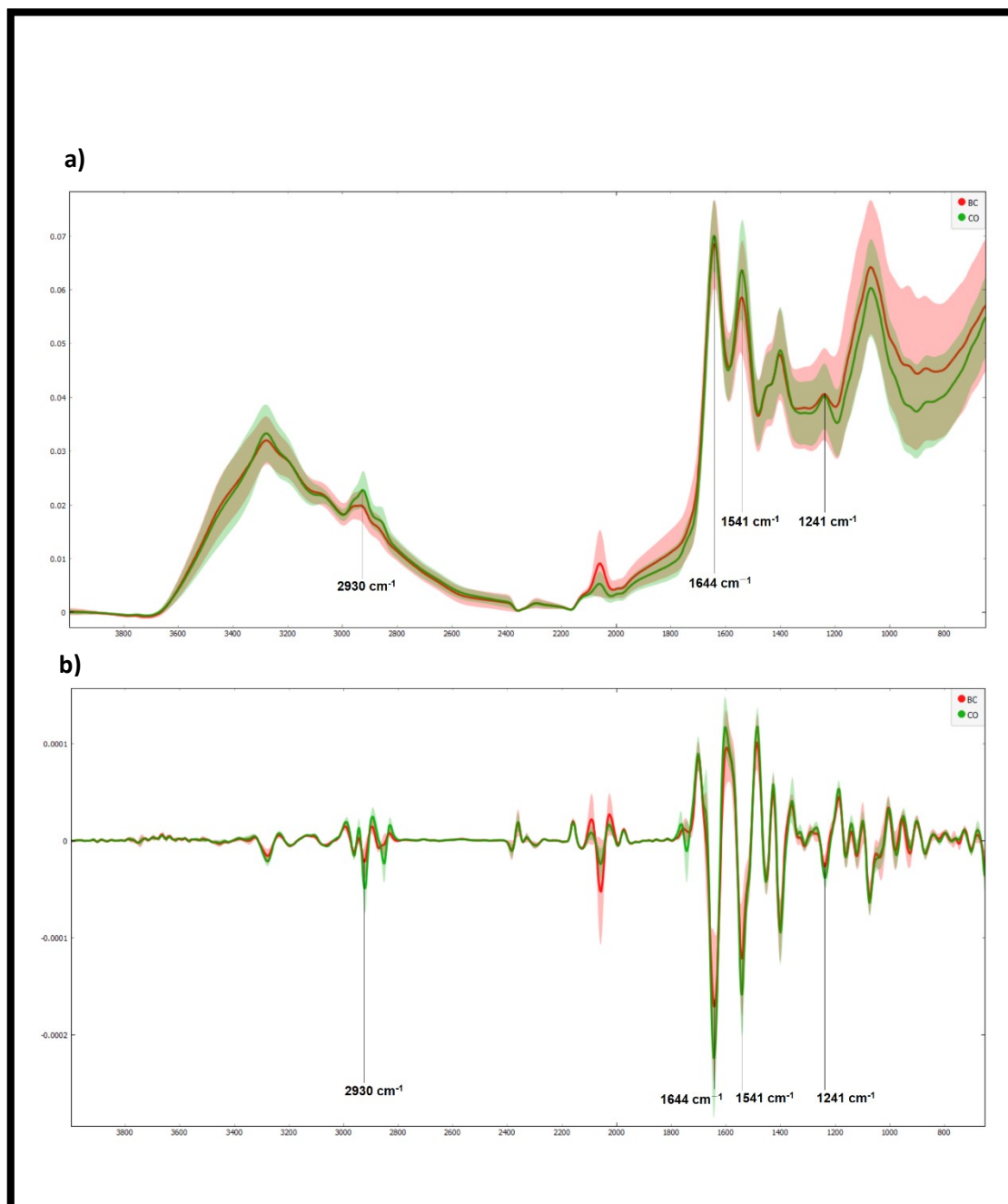


Figure 5

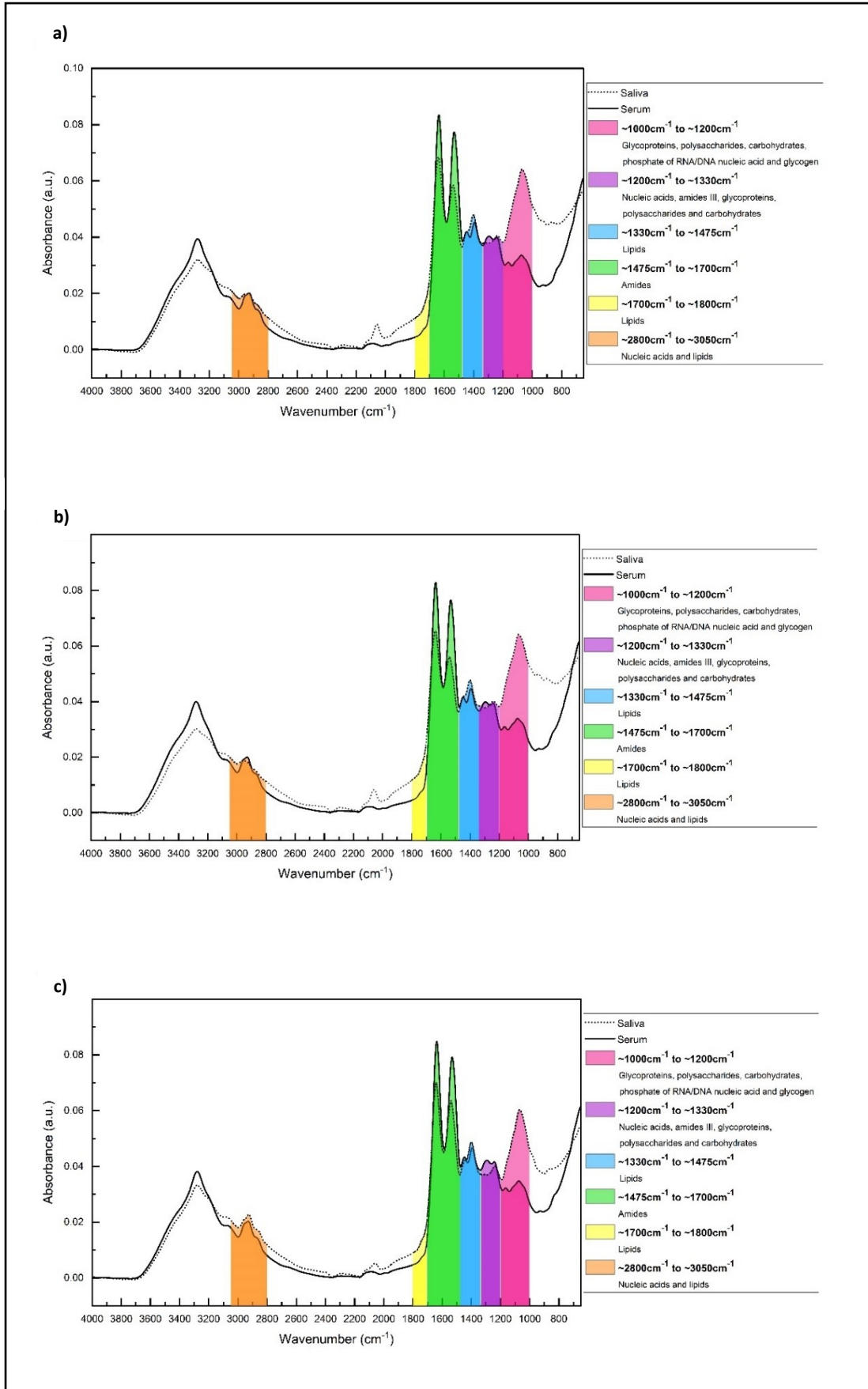


Table 1 Demographic features of individuals with breast cancer, benign breast disease and control patients (n = 73)

Characteristics	Breast cancer (n = 31)	Benign breast disease (n = 18)	Control (n = 24)	p value
Age (years)				0.2703
Range (min-max)	33-87	34-75	33-71	
Mean \pm SD	54.35 \pm 14.784	55.33 \pm 11.877	49.83 \pm 7.828	
Menarche age (years)				0.3436
Range (min-max)	9-15	11-16	8-17	
Mean \pm SD	12.14 \pm 1.597	13.33 \pm 1.397	12.58 \pm 2.145	
Menopause (%)	58.1	77.8	66.7	0.6856
History of previous illnesses (%)	77.4	77.8	41.7	0.0108
Family history of breast cancer (%)	29.0	22.2	0.0	0.0162
History of smoking (%)	19.4	11.1	4.2	0.2396
History of alcoholism (%)	16.1	11.1	20.8	0.7098
Physical activity (%)	25.8	50.0	54.2	0.2276

SD, standard deviation; significance level: 5%; confidence intervals: 95%.

Table 2 Clinical and histopathological characteristics of women with breast cancer (n=31)

Characteristics	Breast cancer (n = 31)
	n (%)
Age (years) mean (min-max \pm SD)	54.35 (33-87 \pm 14.784)
Tumor Subtype	
Ductal carcinoma	27 (87.1)
Lobular carcinoma	3 (9.7)
NR	1 (3.2)
Clinical Stage	
0	-
I	1 (3.2)
II	17 (54.8)
III	4 (12.9)
IV	4 (12.9)
NR	5 (16.1)
Histological Grade	
G1	2 (6.5)
G2	18 (58.1)
G3	5 (16.1)
NR	6 (19.4)
Molecular Subtypes	
ER+ and/or PR+, HER2- and Ki-67 < 20%	4 (12.9)
ER+ and/or PR+, HER2- and Ki-67 \geq 20%	10 (32.3)
ER+ and/or PR+, HER2+	8 (25.8)
ER-, PR- and HER2+	1 (3.2)
ER-, PR- and HER2-	3 (9.7)
NR	5 (16.1)
Surgery	
Radical Mastectomy	7 (22.6)
Conservative Surgery	17 (54.8)
Needle Biopsy	-
NR	7 (22.6)

SD, standard deviation; G1, well-differentiated tumor (low grade); G2, moderately differentiated tumor (intermediate grade); G3, poorly differentiated tumor (high grade); ER, estrogen receptor; PR, progesterone receptor; -, negative; + positive; HER2+, human epidermal growth factor receptor 2 positive; HER2-, human epidermal growth factor receptor 2 negative; Ki-67, Ki-67 antigen; NR, not registered.

Table 3 Comparison of the mean serum and saliva absorbances of patients with breast cancer, benign breast disease and healthy control groups

Regions	Wavenumber	Absorbance		p value (serum x saliva)			Assignment
		Serum	Saliva	BC	BBD	CO	
~1000 cm ⁻¹ to ~1200 cm ⁻¹	1070 cm ⁻¹	↓	↑	<0,0001	<0,0001	<0,0001	Glycoproteins, polysaccharides, carbohydrates, phosphate of RNA/DNA nucleic acid and glycogen
	1077 cm ⁻¹	↓	↑	<0,0001	0,0002	0,0008	
	1163 cm ⁻¹	↓	↑	<0,0001	0,0010	0,0030	
~1200 cm ⁻¹ to ~1330 cm ⁻¹	1241 cm ⁻¹	↑	↓	<0,0001	<0,0001	<0,0001	Nucleic acids, amides III, glycoproteins, polysaccharides and carbohydrates
	1295 cm ⁻¹	↑	↓	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
~1330 cm ⁻¹ to ~1475 cm ⁻¹	1403 cm ⁻¹	↓	↑	<0,0023	0,0129	<0,0001	Lipids
	1407 cm ⁻¹	↓	↑	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	1448 cm ⁻¹	↓	↑	<0,0001	0,0290	<0,0001	
~1475 cm ⁻¹ to ~1700 cm ⁻¹	1534 cm ⁻¹	↑	↓	<0,0001	<0,0001	<0,0001	Amides
	1541 cm ⁻¹	↑	↓	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	1640 cm ⁻¹	↑	↓	<0,0001	<0,0001	0,0012	
~1700 cm ⁻¹ to ~1800 cm ⁻¹	1737 cm ⁻¹	↓	↑	<0,0001	<0,0001	0,0082	Lipids
~2800 cm ⁻¹ to ~3050 cm ⁻¹	2864 cm ⁻¹	↓	↑	<0,0001	<0,0001	<0,0001	Nucleic acids and lipids
	2930 cm ⁻¹	↓	↑	<0,0001	<0,0001	0,2300	
	2959 cm ⁻¹	↓	↑	<0,0001	<0,0001	0,0082	

BC, breast cancer; BBD, benign breast disease; CO, control group; RNA, ribonucleic acid; DNA, deoxyribonucleic acid; ↓ lower absorbance; ↑ higher absorbance; Significance level: 5%; Confidence intervals: 95%.

ARTIGO 2. “Prognostic insights of inflammatory blood biomarkers as predictors of survival in advanced breast cancer”

O artigo será submetido na revista *Palliative Medicine*, fator de impacto 3.9 no formato de *Short Reports*.

PROGNOSTIC INSIGHTS OF INFLAMMATORY BLOOD BIOMARKERS AS PREDICTORS OF SURVIVAL IN ADVANCED BREAST CANCER

Lara de Andrade Marques^{a,b}, Alinne Tatiane Faria Silva^c, Emilia Rezende Vaz^{a,b}, Pedro Augusto Amaral^a, Taysa Machado Menezes^a, Talita Cristina Rodrigues Pereira^a, Carlos Eduardo Paiva^c, Yara Cristina de Paiva Maia^{a,b*}

^a Molecular Biology and Nutrition Research Group, School of Medicine, Graduate Program in Health Science, Federal University of Uberlandia (UFU), Av. Amazonas sn, Block 2E, 2° Floor, Room 210, Campus Umuarama, Uberlandia 38405-320, Minas Gerais, Brazil.

^b Laboratory of Nanobiotechnology Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho, Institute of Biotechnology, Federal University of Uberlandia (UFU), Av. Amazonas sn, Block 2E, 2° Floor, Room 248, Campus Umuarama, Uberlandia 38405-302, Minas Gerais, Brazil

^c Learning and Research Institute, Barretos Cancer Hospital, R. Antenor Duarte Vilela, 1331, Doutor Paulo Prata, Barretos 14784-400, Sao Paulo, Brazil

Lara de Andrade Marques: lara.marques@ufu.br

Alinne Tatiane Faria Silva: alinnetatianefaria@gmail.com

Emilia Rezende Vaz: emiliarezendev@gmail.com

Pedro Augusto Amaral: pedroauam@gmail.com

Taysa Machado Menezes: taysamm@live.com

Talita Cristina Rodrigues Pereira: talitacrp1302@gmail.com

Carlos Eduardo Paiva: caredupai@gmail.com

Yara Cristina de Paiva Maia: yara.maia@ufu.br

*Corresponding author: Yara Cristina de Paiva Maia: yara.maia@ufu.br

Abstract

Background: Advanced breast cancer remains a major global health challenge, with a poor prognosis despite therapeutic advances. Inflammation plays a key role in tumor progression and immune evasion, highlighting the potential of inflammatory biomarkers as prognostic tools.

Objective: To investigate the prognostic significance of hematological indices and cytokines derived from routine blood analysis for overall survival in patients with advanced breast cancer.

Methods: A prospective study was conducted with 33 patients with advanced breast cancer enrolled in a palliative care program in Brazil between 2021 and 2024. Baseline red blood cell distribution width (RDW), neutrophil-to-lymphocyte ratio (N/L), lymphocyte-to-monocyte ratio (L/M), RDW-to-platelet ratio (RPR), and serum interleukins IL-1BETA, IL-6 and IL-10 were assessed. Survival analysis was performed using Kaplan–Meier and Cox proportional hazard models. **Results:** Elevated IL-1BETA (>76.03 pg/mL) and IL-10 (>24.21 pg/mL) were significantly associated with worse overall survival ($p = 0.018$ and $p = 0.046$, respectively), with increased risk of death of 8.84-fold and 7.17-fold, respectively. No significant associations were observed for RDW, RPR, N/L, L/M, or IL-6. Treatments did not significantly affect biomarker levels. **Conclusion:** Elevated IL-1BETA and IL-10 levels are associated with worse survival in advanced breast cancer, while conventional hematological ratios appear less informative in this clinical context. These biomarkers emerge as promising, low-cost, and biologically relevant tools for prognostic evaluation and therapeutic decision-making in advanced disease.

Keywords: Biomarkers, Tumor; Overall survival; Advanced cancer; Prognosis; Interleukins.

1 Introduction

Despite early detection and systemic therapies being advanced, the prognosis of patients with advanced or metastatic breast cancer (BC) is still unsatisfactory, a situation that asserts the need for the identification of reliable and cost-effective biomarkers for improved prognostic estimation and therapeutic stratification (Cardoso et al., 2020). Although there are new therapeutic options, BC remains the most commonly diagnosed cancer and the leading cause of cancer-related deaths among women worldwide, which becomes a significant global health issue (Sung et al., 2021).

Tumor initiation, progression and metastasis in BC are increasingly acknowledged to be promoted by chronic inflammation (Galdiero et al., 2018; Mantovani et al., 2017). In this regard, systemic inflammatory markers, including red blood cell distribution width (RDW), the RDW-to-platelet ratio (RPR), the neutrophil-to-lymphocyte ratio (N/L) and the lymphocyte-to-monocyte ratio (L/M), derived from routine blood counts, have been highlighted as simple and inexpensive prognostic markers for various malignancies (Yin et al., 2023; Templeton et al., 2014; Ethier et al., 2017). These hematology factors might be able to serve as secondary measures of the immune response, tumor markers, antitumor immunotolerance and nutritional

states that could all be related to disease outcomes and survival (Boaro et al., 2022; Li et al., 2024).

Furthermore, the cytokines, including interleukin-1 beta (IL-1BETA), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-10 (IL-10) are important mediators of inflammatory tumor microenvironment and immune evasion mechanisms in BC (Johnson et al., 2018; Chang et al., 2021). Increased serum IL-1BETA levels have been correlated with tumor-acquisition ability and resistance to treatment by inducing angiogenesis, immunosuppression and metastasis (Mantovani et al., 2017; Galdiero et al., 2018). In turn, IL-6 is involved in the proliferation and resistance to apoptosis of tumor cells, and IL-10 has been identified as an immunosuppressive cytokine that may promote immune evasion by tumors (Chang et al., 2021).

While some studies have suggested the prognostic value of these inflammatory markers individually in patients with BC and other cancers, such evidence is still conflicting, especially in populations of advanced patients treated under a palliative intent (Yin et al., 2023; Yan et al., 2023). There are few studies that determine the combined prognostic efficacy of hematological indices and pro-inflammatory cytokines in a cohort of patients.

Therefore, in this study, we tested the hypothesis that the RDW, RPR, N/L, L/M, interleukins IL-1BETA, IL-6 and IL-10 biomarkers are accurate and cost-effective parameters for predicting overall survival and prognosis of patients with advanced BC. The aim was to investigate the association of these potential prognostic biomarkers with overall survival and prognosis of patients with advanced BC.

2 Material and Methods

2.1 Study Design, Population, and Sample Size

Using a Brazilian cohort focused on patients with advanced, stage IV, metastatic breast cancer enrolled in the palliative care outpatient clinic of Clinical Hospital at Uberlândia (MG, Brazil), this study was conducted prospectively with data collected between 2021 and 2024. The study was approved by the Human Research Ethics Committee of the Federal University of Uberlândia (CAAE: 08755018.1.0000.5152), in accordance with the Declaration of Helsinki and resolution CNS 466/12.

It included 33 volunteer participants with advanced BC, clinical stage IV, metastatic, who signed a consent form. Participants could be receiving active antineoplastic therapy or not, were under outpatient follow-up and provided a venous blood sample. Exclusion criteria

included age under 18 years, primary tumor sites other than the breast, unaware of the advanced disease diagnosis, unconscious state and current use of anti-inflammatory drugs.

2.2 Functional Status Assessment and Clinicopathological Characteristics

General demographic data and clinicopathological characteristics were recorded for each patient. The functional status of the patients was assessed using the Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG-PS) by the research group at the institute where the patient was receiving treatment. Patients were categorized according to the ECOG-PS into five scores (grades 0-4) and then grouped into three categories: group 1 (score 0-1), group 2 (score 2-3), and group 3 (score 4), based on changes in functional capacity.

2.3 Biomarkers Analysis

The RDW, neutrophil, lymphocyte, monocyte, and platelet values were obtained at baseline from the results of the complete blood count (CBC) available in the participants' medical records. The hospital protocol consists of collecting whole blood in a tube with EDTA anticoagulant and subsequent analysis of the blood cells. The neutrophil, lymphocyte, and monocyte values, as well as the RDW and platelet values, were used to calculate the N/L ratio, L/M ratio, and RPR, respectively.

Serum levels of interleukin 1 beta (IL-1BETA), interleukin 6 (IL-6) and interleukin 10 (IL-10) were measured using commercial sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) kits (Entek Scientific©, Oregon, USA). The assays were conducted in accordance with manufacturer's instructions (catalog numbers ELK1270, ENT1156 and ENT1142, respectively). Due to the critical nature of the patients' clinical condition and the limited availability of biological sample material, the analyses were performed in singlicate. The standard curve detection limit ranged from 15.63 to 1000pg/mL for IL-1BETA, and from 7.82 to 500 pg/mL for IL-6 and IL-10. Absorbance was measured at 450nm with a Multimode Plate Reader (PerkinElmer Life & Analytical Sciences Ltd., Connecticut, USA - VICTOR Nivo™, SN: HH35L2023077, Type: HH3500).

The patients were categorized according to the median RDW (≤ 14.6 and >14.6), median N/L (≤ 2.43 and >2.43), median L/M (≤ 3.38 and >3.38), median RPR (≤ 0.19 and >0.19), median interleukins IL-1BETA (≤ 76.03 and >76.03), IL-6 (≤ 50.65 and >50.65), and IL-10 (≤ 24.21 and >24.21).

2.4 Statistical Analysis

The Shapiro-Wilk normality test was initially performed to assess the distribution of the data. For normally distributed variables, means were compared using the unpaired t-test. For variables that did not follow a normal distribution, the Mann-Whitney test was used to compare the means. One-way ANOVA was used to compare group means and verify statistically significant differences. Overall survival, defined as the number of months from study entry to death or censored if alive at the follow-up date (December 31, 2024), was calculated. Survival analysis was performed, and curves were constructed by the Kaplan-Meier method and analyzed by the log-rank test. The Cox proportional hazard model and time-dependent Cox regression for non-proportional hazard were used to conduct survival analysis. Hazard ratios (HR) were calculated, and the chi-square test was used for comparisons of categorical variables. All statistical tests were conducted at a 5% significance level, and 95% confidence intervals (CI). Two-sided p-values below 0.05 were considered significant. All analyses were conducted using SPSS Version 25 (SPSS Inc).

3 Results

3.1 Characterization of the Study Population

The clinicopathological characteristics of the 33 patients with advanced BC are presented in Table 1. The mean age was 61.45 years (range 37-87, \pm SD 12.782). At the time of data censoring, 15 patients (45.5%) were alive, while 18 (54.5%) had passed away with no statistically significant difference between the groups ($p = 0.6228$). This result indicates that the sample is invariable in terms of the vital status of the patients. The median overall survival was 223 days or 7.43 months (IQR 575.50 – 19.18).

Regarding clinical status, most patients (51.51%) had an ECOG-PS score 0/1. Chemotherapy was the most frequent treatment (39.4%), followed by hormonal therapy (24.2%), no current treatment (15.2%), immunotherapy (6.1%), and combined immunotherapy + hormonal therapy or chemotherapy + hormonal therapy (each 3.0%). In 9.1% of patients there were no reports of treatment. The difference in the distribution of treatments was statistically significant ($p < 0.0001$). Still regarding treatments, 12 patients (36.4%) underwent radical mastectomy, 11 (33.2%) did not undergo breast surgery, followed by five (15.2%) who underwent breast-conserving surgery. In 15.2% of patients, there are no records of surgery. The difference in this category was statistically significant ($p = 0.0011$), indicating a predominance

of mastectomy among treated patients. Regarding metastasis, 100% of patients presented with metastasis.

Table 1 – Clinicopathological characteristics of patients with advanced breast cancers (n = 33).

Characteristics	n	%	p-value
Age (years)			
Range (min-max)	37-87		
Mean \pm SD	61.45 \pm 12.782		
Tumor Subtype			<0.0001
Ductal carcinoma	29	87.8	
Lobular carcinoma	2	6.1	
Occult breast cancer	2	6.1	
Histological Grade			0.0044
G1	2	6.1	
G2	14	42.4	
G3	7	21.2	
NR	10	30.3	
Molecular Subtypes			0.0280
ER+ and/or PR+, HER2- and Ki-67 < 20%	7	21.21	
ER+ and/or PR+, HER2- and Ki-67 \geq 20%	11	33.33	
ER+ and/or PR+, HER2+	6	18.18	
ER-, PR- and HER2+	7	21.21	
ER-, PR- and HER2-	2	6.07	
Treatment			<0.0001
No current treatment	5	15.2	
Chemotherapy	13	39.4	
Immunotherapy	2	6.1	
Hormone therapy	8	24.2	
Immunotherapy + Hormone therapy	1	3.0	
Chemotherapy + Hormone therapy	1	3.0	
NR	3	9.1	
Surgery			0.0011
No surgery	11	33.2	
Radical Mastectomy	12	36.4	
Conservative Surgery	5	15.2	
NR	5	15.2	
Status			0.6228
Alive	15	45.5	
Dead	18	54.5	
ECOG performance status			<0.0001
0/1	17	51.51	
2/3	15	45.45	
4	1	3.04	

Min: Minimum; max: Maximum; SD: standard deviation; G1: well-differentiated tumor (low grade); G2: moderately differentiated tumor (intermediate grade); G3: poorly differentiated tumor (high grade); NR: not registered; ER: estrogen receptor; PR: progesterone receptor; -: negative; +: positive; HER2+: human epidermal growth factor receptor 2 positive; HER2-: human epidermal growth factor receptor 2 negative; Ki-67: Ki-67 antigen; <: less than; \geq : greater than or equal to; ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group.

3.2 Associations between biomarkers and overall survival

With respect to predictive factors (Table 2), ECOG PS, IL-1BETA and IL-10 were the found to be significant predictors of survival ($p=0.014$, $p=0.018$ and $p=0.046$, respectively), in both the univariate analysis (Kaplan-Meier) (Figure 1) and the Cox proportional hazards model.

For ECOG PS, patients with ECOG 2/3 had an 0.177-fold higher risk of death (95% CI 0.019 – 1.617) compared with those with ECOG 0/1. And patients with ECOG 4 had an 0.731-fold higher risk of death (95% CI 0.090 – 5.944) compared with those with ECOG 0/1. For IL-1BETA, patients with levels > 76.03 had an 8.842-fold higher risk of death (95% CI 1.037 – 75.358) compared with those with levels ≤ 76.03 . For IL-10, patients with levels > 24.21 had a 7.171-fold higher risk of death (95% CI 0.789 – 65.196) compared with those with levels ≤ 24.21 . These data indicate that elevated expressions of IL-1BETA and IL-10 may be useful as predictive markers for patients with advanced breast cancer with poor prognosis. The other biomarkers, RDW ($p=0.546$), RPR ($p=0.932$), N/L ($p=0.550$), L/M ($p=0.423$) and IL-6 ($p=0.404$), were not significantly correlated with overall survival.

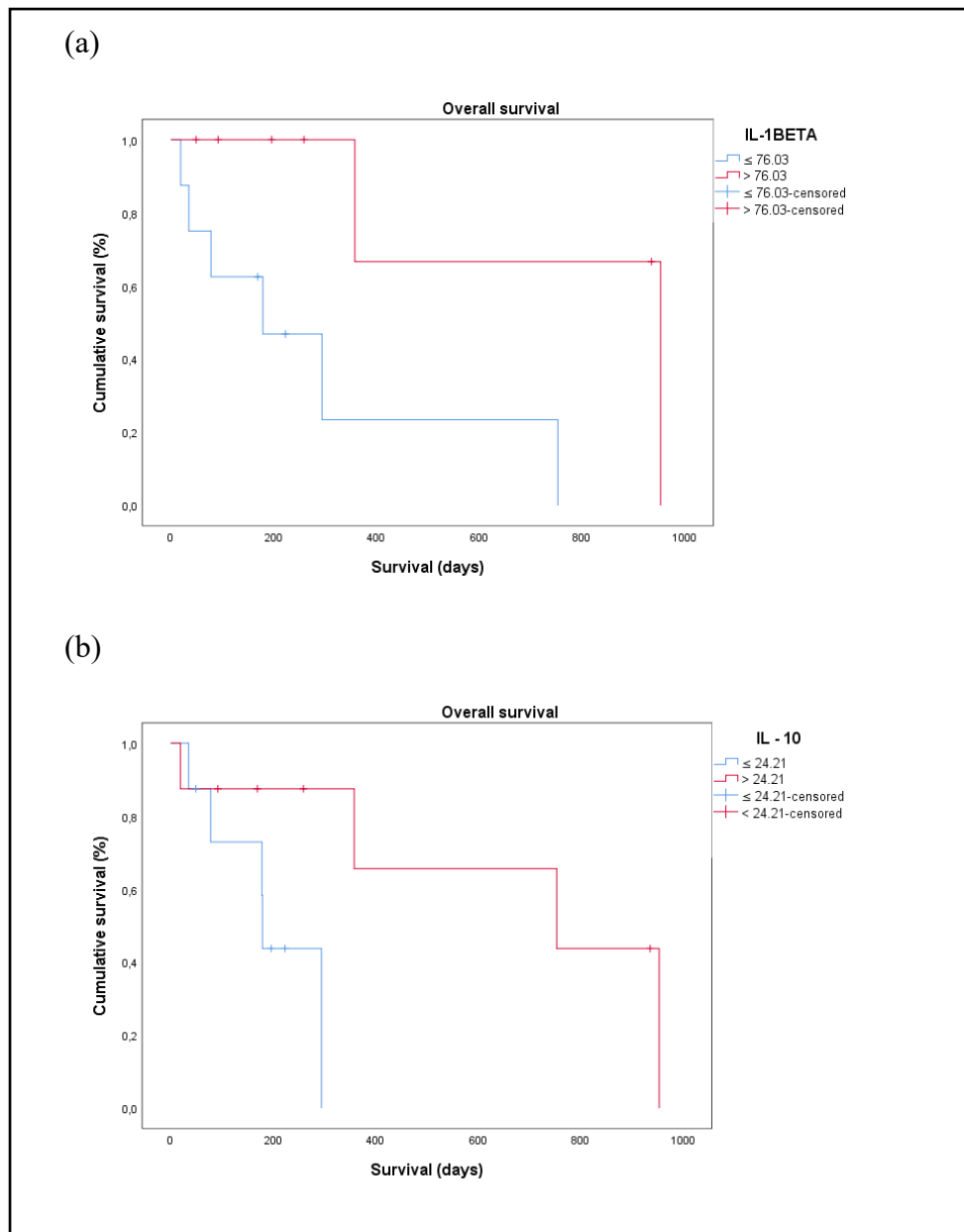
We also investigated whether there would be an effect of treatments on marker levels. MANOVA showed no effect of treatments on biomarker levels [Pillai's Trace = 3.311; $F(35, 30) = 1.680$; $p = 0.075$] and subsequent univariate ANOVAs likewise showed no effect of treatment on marker levels (RDW $p=0.104$; N/L $p=0.054$; L/M $p=0.148$; RPR $p=0.940$; IL1BETA $p=0.925$; IL6 $p=0.918$ and IL10 $p=0.787$).

Table 2 - The relationship between clinicopathological factors and survival in patients with advanced breast cancer (n=33).

Characteristics	n	Univariate HR (95% CI) (min-max)	p
ECOG performance status			0.014
0/1	17	1.000 (Ref.)	
2/3	15	0.177 (0.019 – 1.617)	
4	1	0.731 (0.090 – 5.944)	
RDW			0.546
≤ 14.6	18	1.000 (Ref.)	
> 14.6	15	1.329 (0.526 – 3.359)	
RPR			0.932
≤ 0.19	18	1.000 (Ref.)	
> 0.19	15	1.041 (0.410 – 2.644)	
N/L			0.550
≤ 2.43	15	1.000 (Ref.)	
> 2.43	18	1.332 (0.519 – 3.421)	
L/M			0.423
≤ 3.38	17	1.491 (0.557 – 3.992)	
> 3.38	16	1.000 (Ref.)	
IL-1BETA			0.018
≤ 76.03	8	1.000 (Ref.)	
> 76.03	7	8.842 (1.037 – 75.358)	
NR	18	-	
IL-6			0.404
≤ 50.65	7	1.000 (Ref.)	
> 50.65	8	1.977 (0.388 – 10.082)	
NR	18	-	
IL-10			0.046
≤ 24.21	8	1.000 (Ref.)	
> 24.21	8	7.171 (0.789 – 65.196)	
NR	17	-	

HR: Hazard Ratio; CI: Confidence Interval; SD: standard deviation; ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; RDW: red blood cell distribution width; RPR: ratio of red cell distribution width (RDW) to platelet count; N/L: neutrophil/lymphocyte ratio; L/M: lymphocyte/monocyte ratio; IL-1BETA: interleukin-1 BETA; IL-6: interleukin-6; IL-10: interleukin-10; NR, not registered; Ref.: Reference.

Figure 1 - Kaplan-Meier survival curves associated with the relationship between prognostic markers and overall survival of patients with advanced breast cancer, with respect to (a) IL-1BETA and (b) IL-10.



4 Discussion

The present study aimed to evaluate the association of the RDW, RPR, N/L, L/M, interleukins IL-1BETA, IL-6 and IL-10, with overall survival and prognosis of patients with advanced breast cancer (BC). IL-1BETA and IL-10 were significantly associated with overall survival ($p=0.018$ and $p=0.046$, respectively). IL-1BETA > 76.03 pg/mL increased the risk of

death by approximately 8.8-fold, and IL-10 > 24.21 pg/mL by 7.1-fold, it implies that high levels of these markers could predict a poor prognosis in advanced BC. The other biomarkers analyzed showed no significant correlation. Additionally, the analysis revealed that the Eastern Cooperative Oncology Group performance status (ECOG-PS) was significantly associated with overall survival, reinforcing its role as a robust clinical prognostic factor in advanced breast cancer.

The clinicopathological profile of the cohort demonstrates a predominance of ductal carcinoma (87.8%), stage IV disease (100%), and patients mostly with ECOG 0–1 (51.51%), reflecting a functionally preserved but systemically advanced population. ECOG-PS is a well-established measure of functional capacity and reflects the patient's ability to perform daily activities, tolerance to systemic treatments, and overall physiological reserve. In the present cohort, worse ECOG scores were associated with reduced survival, highlighting that functional impairment remains a critical determinant of prognosis, even in the context of biomarker-driven risk stratification. This finding is consistent with previous studies demonstrating that ECOG-PS is one of the strongest predictors of survival in advanced and metastatic cancers, often surpassing laboratory or molecular parameters (Blagden et al., 2003; Sørensen et al., 1993). Importantly, the prognostic significance of ECOG-PS in our study complements the inflammatory biomarker findings, suggesting that clinical performance status and systemic immune-inflammatory activation represent interconnected but distinct dimensions of disease severity.

Most participants received chemotherapy (39.4%) or hormone therapy (24.2%), and more than one-third had undergone radical mastectomy (36.4%), indicating exposure to prior curative-intent treatments before palliative follow-up. The mean age was 61.45 years, consistent with other series of advanced BC in the world (Frank et al, 2020; Deluche et al., 2020). The absence of treatment effect on biomarker levels ($p > 0.05$ for all) suggests that inflammatory activation persists independently of therapy type. This finding highlights that cytokine-mediated pathways, particularly involving IL-1BETA and IL-10, might be intrinsic drivers of disease progression rather than secondary effects of treatment.

IL-1BETA is a proinflammatory cytokine that is involved in the inflammatory response. Being widely documented in oncology, chronic inflammation has been identified as an important player in cancer formation and progression, and in treatment resistance. Some studies have also investigated the association of inflammatory cytokines such as IL-1BETA with prognosis in various types of cancer, such as BC. For instance, IL-1BETA signaling pathway

activation by ligands was reported to possibly support tumor survival, migration and invasion, whilst also angiogenesis and immunosuppression in the tumor microenvironment (Rébé, Ghiringhelli, 2020; Zhou et al., 2022; Mantovani et al., 2017).

About IL-10, it's a cytokine primarily produced by regulatory T cells (Tregs), tumor-associated macrophages (TAMs), and B regulatory cells, acting as a major inhibitor of pro-inflammatory cytokines such as IL-1, IL-6, TNF- α , and IFN- γ (Moore et al., 2001; Ouyang et al., 2011). In the tumor microenvironment, this immunosuppressive activity may paradoxically favor cancer progression by impairing antigen presentation, inhibiting cytotoxic T-cell activation, and enhancing immune tolerance toward malignant cells (Rallis et al., 2022). In breast cancer specifically, high IL-10 expression has been correlated with advanced stage, lymph node involvement, and reduced disease-free survival (Chang et al., 2021). The present findings are in line with those reported by Zhao et al. (2015), who observed that elevated IL-10 levels in breast cancer patients were associated with reduced overall survival and treatment resistance.

Interestingly, IL-10 has also been described as a context-dependent cytokine, capable of exerting antitumor effects under certain experimental conditions. Some studies have shown that low-dose or transient IL-10 exposure can enhance CD8⁺ T-cell-mediated cytotoxicity and increase interferon- γ production (Emmerich et al., 2012). However, in chronic inflammation and in advanced disease stages, such as in our cohort, the sustained overexpression of IL-10 tends to dominate through its tolerogenic and immunosuppressive properties, ultimately leading to poorer prognosis. Therefore, our study adds evidence that high systemic IL-10 concentrations reflect an immune-evasive tumor microenvironment and are independently associated with poor survival in advanced breast cancer. Further prospective studies are needed to elucidate whether IL-10 blockade could restore antitumor immunity and improve clinical outcomes in this population.

While IL-1BETA and IL-10 may capture tumor-driven immunosuppressive and inflammatory mechanisms, ECOG-PS likely reflects the cumulative impact of tumor burden, systemic inflammation, comorbidities, and treatment-related toxicity. Therefore, the combined assessment of ECOG-PS and circulating cytokines may provide a more comprehensive and clinically meaningful prognostic framework for patients with advanced breast cancer, particularly in palliative care settings.

The interleukin IL-6 is crucial for immune and inflammatory responses in cancer. It has been shown to be involved in tumor progression and therapy resistance in various cancers

(Johnson et al., 2018). We detected no significant association for the utility of IL-6 ($p=0.404$) in these analyses; however, this cytokine seems to be relevant in the tumor micro-environment in BC, and future studies with a greater number of samples may bring insight as to the specific prognostic significance of this mediator.

Previous studies have highlighted RDW as a promising hematological biomarker in different types of cancer, including breast cancer, as it reflects alterations in erythropoiesis and chronic inflammation associated with the tumor microenvironment (Yin et al., 2023; Boaro et al., 2022). Huang et al. (2016) also observed a significant association between elevated RDW and worse prognosis in young women with breast cancer. However, specific evidence in patients with advanced or metastatic breast cancer remains scarce, and the results are inconsistent. Thus, our findings contribute by indicating that, in small, advanced populations and those undergoing palliative care, RDW may not have significant prognostic value, reinforcing the need for further investigations that stratify by molecular subtypes, therapeutic lines and basal inflammation.

The importance of systemic inflammation in prognosis was supported in the literature. Blood cell-derived inflammatory markers such as N/L and L/M ratios have stood out as potential prognostic biomarkers in many studies (Templeton et al., 2014; Ethier et al., 2017). In contrast, retrospective studies in restricted subgroups suggest that clinical factors, such as performance status, type of treatment, and metastatic stage, may dilute or even nullify the predictive power of this ratio alone (Rubio et al., 2019). In our study, the N/L ($p = 0.550$) and L/M ($p = 0.423$) did not have a significant association, and the non-significance of these markers in our cohort may be related to the relatively low power of the sample ($n=33$) or the intrinsic heterogeneity of the population of advanced BC.

Studies analyzing RPR (RDW/platelet ratio) and the prognosis of breast cancer patients are scarce in the literature. In 2019, Takeuchi et al. published the first study showing that an elevated RPR can independently predict a poor prognosis in breast carcinoma patients and suggest RPR as a new biomarker for prognostic estimation. Larger sample-based and more comprehensive studies are needed to confirm the significance of this index in advanced breast carcinomas, because our findings did not support a significant association between RPR and survival ($p=0.932$). In addition, advanced BC is often accompanied by anemia of chronic disease, cachexia, and infection risk, which may confound hematological parameters and attenuate their prognostic meaning.

Taken together, these results indicate that while hematological indices are inexpensive and accessible, cytokine profiling provides a more accurate reflection of tumor-related inflammation and immune dysregulation in advanced BC. Monitoring ECOG PS, IL-1BETA and IL-10 could therefore improve prognostic assessment and potentially guide personalized immunomodulatory approaches.

The number of patients (n=33) is the main limitation of this study, which could have prevented the showing of significant associations for the particular biomarkers studied. Moreover, missing data for some interleukins (NR cases in Table 2) may have reduced statistical power. These findings should be confirmed through larger, multicenter studies and analyzed for parallel pathways possibly involving other biomarkers for inflammation and hematopoiesis. The single-center study design and heterogeneity of the treatments received by patients may potentially cause bias. The use of singlicate ELISA tests for interleukin analysis was necessary to ensure the inclusion of all patients enrolled in the study, prioritizing the collection of relevant clinical data without compromising sample integrity. While we recognize that the lack of technical replicates may limit analytical precision, rigorous care was taken to minimize experimental variability, including standardization of procedures and appropriate controls at all stages of the assay. Notwithstanding the aforementioned limitations, this study is innovative, and the determination of the ECOG PS, IL-1BETA and IL-10 as major predictors among this Brazilian population of advanced BC patients offers valuable insights and new directions to be addressed.

5 Conclusion

Elevated ECOG PS, IL-1BETA and IL-10 levels are associated with worse survival in advanced breast cancer, while conventional hematological ratios appear less informative in this clinical context. These biomarkers emerge as promising, low-cost, and biologically relevant tools for prognostic evaluation and therapeutic decision-making in advanced disease.

6 Acknowledgments

The patients who collaborated for the accomplishment of this study. This work has been supported by the following Brazilian research agencies: CAPES, CNPq and FAPEMIG.

References

Cardoso, F., et al. (2020). 5th ESO–ESMO International Consensus Guidelines for Advanced Breast Cancer (ABC 5). *Annals of Oncology*, 31(12), 1623–1649. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.09.010>

Sung, H., et al. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>

Galdiero MR, Marone G, Mantovani A. Cancer Inflammation and Cytokines. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018 Aug 1;10(8):a028662. doi: 10.1101/cshperspect.a028662

Mantovani, A., Barajon, I., & Garlanda, C. (2017). IL-1 and IL-1 regulatory pathways in cancer progression and therapy. *Immunological Reviews*, 277(1), 38–48. <https://doi.org/10.1111/imr.12614>

Yin JM, Zhu KP, Guo ZW, Yi W, He Y, Du GC. Is red cell distribution width a prognostic factor in patients with breast cancer? A meta-analysis. *Front Surg*. 2023 Mar 24;10:1000522. doi: 10.3389/fsurg.2023.1000522.

Templeton, A. J., et al. (2014). Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: A systematic review and meta-analysis. *Journal of the National Cancer Institute*, 106(6), dju124. <https://doi.org/10.1093/jnci/dju124>

Ethier, JL., Desautels, D., Templeton, A. et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res* 19, 2 (2017). <https://doi.org/10.1186/s13058-016-0794-1>

Boaro, C. M., Diefenthäeler, L. M., Costa, G. K. D., Tiscoski, K. A., Alves, R. J. V., & Berto, M. D. (2022). Hematological ratios as prognostic indicators in patients with triple-negative breast cancer in southern Brazil. *Mastology*, 32, 1-8. <https://doi.org/10.29289/2594539420210059>

Li F, Wang Y, Dou H, Chen X, Wang J and Xiao M (2024). Association of immune inflammatory biomarkers with pathological complete response and clinical prognosis in young breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy. *Front. Oncol.* 14:1349021. doi: 10.3389/fonc.2024.1349021

Johnson, D., O'Keefe, R. & Grandis, J. Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 15, 234–248 (2018). <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2018.8>

Chang CM, Lam HYP, Hsu HJ, Jiang SJ. Interleukin-10: A double-edged sword in breast cancer. *Tzu Chi Med J.* 2021 Feb 24;33(3):203-211. doi: 10.4103/tcmj.tcmj_162_20.

Yan S, Kong J, Zhao ZF, Yao H. The prognostic importance of red blood cell distribution width for gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *Transl Cancer Res.* 2023 Jul 31;12(7):1816-1825. doi: 10.21037/tcr-23-53.

Réb  , C., & Ghiringhelli, F. (2020). Interleukin-1   and cancer. *Cancers*, 12(7), 1791. <https://doi.org/10.3390/cancers12071791>

Zhou J, Tulotta C, Ottewell PD. IL-1   in breast cancer bone metastasis. *Expert Reviews in Molecular Medicine.* 2022;24:e11. doi:10.1017/erm.2022.4

Moore, K. W., de Waal Malefyt, R., Coffman, R. L., & O'Garra, A. (2001). Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual review of immunology*, 19(1), 683-765. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.683>

Ouyang, W., Rutz, S., Crellin, N. K., Valdez, P. A., & Hymowitz, S. G. (2011). Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annual review of immunology*, 29(1), 71-109. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101312>

Rallis, K. S., Corrigan, A. E., Dadah, H., Stanislovas, J., Zamani, P., Makker, S., ... & Sideris, M. (2022). IL-10 in cancer: an essential thermostatic regulator between homeostatic immunity and inflammation—a comprehensive review. *Future Oncology*, 18(29), 3349-3365. <https://doi.org/10.2217/fon-2022-0063>

Zhao, S., Wu, D., Wu, P., Wang, Z., & Huang, J. (2015). Serum IL-10 Predicts Worse Outcome in Cancer Patients: A Meta-Analysis. *PloS one*, 10 (10), e0139598. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139598>

Emmerich, J., Mumm, J. B., Chan, I. H., LaFace, D., Truong, H., McClanahan, T., ... & Oft, M. (2012). IL-10 directly activates and expands tumor-resident CD8⁺ T cells without de novo infiltration from secondary lymphoid organs. *Cancer research*, 72(14), 3570-3581. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-0721>

Huang DP, Ma RM, Xiang YQ. Utility of Red Cell Distribution Width as a Prognostic Factor in Young Breast Cancer Patients. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Apr;95(17):e3430. doi: 10.1097/MD.00000000000003430

Rubio, A., Yufera, J.C., de la Morena, P. et al. Neutrophil-lymphocyte ratio in metastatic breast cancer is not an independent predictor of survival, but depends on other variables. *Sci Rep* 9, 16979 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53606-3>

Takeuchi, H., Abe, M., Takumi, Y. et al. Elevated red cell distribution width to platelet count ratio predicts poor prognosis in patients with breast cancer. *Sci Rep* 9, 3033 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40024-8>

Blagden S.P., Charman S.C, Sharples L.D, Magee L.R, Gilligan D. Performance status score: do patients and their oncologists agree? *Br J Cancer*. 15;89(6):1022-7. 2003 doi: 10.1038/sj.bjc.6601231.

Sørensen, J., Klee, M., Palshof, T. et al. Performance status assessment in cancer patients. An inter-observer variability study. *Br J Cancer* 67, 773–775, 1993. <https://doi.org/10.1038/bjc.1993.140>

Frank S, Carton M, Dubot C, Campone M, Pistilli B, Dalenc F, Mailliez A, Levy C, D'Hondt V, Debled M, Vermeulin T, Coudert B, Perrin C, Gonçalves A, Uwer L, Ferrero JM, Eymard JC, Petit T, Mouret-Reynier MA, Patsouris A, Guesmia T, Bachelot T, Robain M, Cottu P.

Impact of age at diagnosis of metastatic breast cancer on overall survival in the real-life ESME metastatic breast cancer cohort. *Breast*. 2020 Aug;52:50-57. doi: 10.1016/j.breast.2020.04.009.

Deluche, E., Antoine, A., Bachelot, T., Lardy-Cleaud, A., Dieras, V., Brain, E., ... & Delaloge, S. (2020). Contemporary outcomes of metastatic breast cancer among 22,000 women from the multicentre ESME cohort 2008–2016. *European journal of cancer*, 129, 60-70. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2020.01.016>

5 CONCLUSÃO

A presente tese investigou duas abordagens complementares e inovadoras na avaliação do câncer de mama: a análise espectroscópica de soro e saliva por ATR-FTIR e a investigação de biomarcadores inflamatórios sistêmicos circulantes. Em conjunto, esses métodos permitiram explorar diferentes dimensões do processo fisiopatológico tumoral, abrangendo desde alterações bioquímicas em fluidos biológicos até sinais sistêmicos de inflamação e imunomodulação.

No primeiro eixo de investigação, os resultados demonstraram que a espectroscopia ATR-FTIR é capaz de identificar assinaturas espectrais diferenciadas entre pacientes com câncer de mama, mulheres com doença benigna da mama e controles saudáveis, tanto em amostras de soro quanto de saliva. A saliva, em particular, mostrou-se um fluido promissor, reforçando seu potencial como método não invasivo, de baixo custo e facilmente aplicável em programas de rastreamento e triagem complementar. A análise comparativa entre soro e saliva contribuiu para ampliar o entendimento das alterações metabólicas associadas ao câncer de mama e confirmou a utilidade dessa técnica como uma ferramenta auxiliar para analisar as doenças da mama.

No segundo eixo, a avaliação de biomarcadores inflamatórios sistêmicos (RDW, RPR, N/L, L/M, IL-1BETA, IL-6 e IL-10) forneceu informações relevantes sobre o estado inflamatório e imunológico de pacientes com câncer de mama avançado. Os achados mostraram que níveis elevados de IL-1BETA e IL-10 estiveram associados a piores desfechos de sobrevida global, destacando o papel dessas citocinas como potenciais indicadores prognósticos em cenários de doença metastática. Esses resultados reforçam a importância da inflamação crônica e das vias imunológicas na progressão tumoral, contribuindo para a estratificação de risco e o monitoramento clínico dessas pacientes.

Assim, esta tese contribui para o campo da oncologia ao evidenciar que métodos não invasivos, acessíveis e de fácil implementação podem fornecer informações robustas sobre o diagnóstico e o prognóstico do câncer de mama. A combinação dessas abordagens amplia as possibilidades para o desenvolvimento de estratégias mais integradas e personalizadas de cuidado oncológico, especialmente em contextos de recursos limitados.

6 PERSPECTIVAS

Os resultados desta tese abrem caminhos importantes para pesquisas futuras e aplicações clínicas, destacando várias perspectivas relevantes:

1. Validação em populações maiores e multicêntricas: Estudos com amostras mais amplas e diversidade populacional poderão confirmar a robustez dos achados espectroscópicos e dos marcadores inflamatórios, fortalecendo sua aplicabilidade clínica. Coortes maiores permitirão aumentar o poder estatístico das análises espectroscópicas e imunológicas, reduzindo a influência da variabilidade individual dos fluidos biológicos e possibilitando a confirmação dos achados preliminares relacionados tanto às diferenças espectrais quanto aos biomarcadores inflamatórios identificados.
2. Avaliar subtipos moleculares isoladamente: Analisar os perfis espectrais em diferentes subtipos moleculares de câncer de mama, buscando identificar assinaturas específicas associadas a cada um;
3. Abordagens quimiométricas: Investigações futuras poderão integrar abordagens quimiométricas, bem como explorar vias paralelas envolvendo novos biomarcadores de inflamação, hematopoese e metabolismo tumoral, contribuindo para uma caracterização mais abrangente da doença.
4. Realizar lipidômica, metabolômica e proteômica dos resultados do artigo 1.
5. Acompanhar pacientes: Acompanhar as pacientes com câncer de mama ao longo do tempo para investigar se as assinaturas espectrais são capazes de prever a resposta ao tratamento e a ocorrência de recidivas.
6. Desenvolvimento de modelos preditivos integrados: A combinação de dados espectrais e biomarcadores inflamatórios por meio de algoritmos de *machine learning* representa uma oportunidade para criar modelos diagnósticos e prognósticos mais sensíveis e específicos.
7. Aplicações da saliva como matriz preferencial: Diante de seu caráter não invasivo e da alta aceitabilidade, futuros estudos podem explorar protocolos padronizados de coleta e análise, visando implementar a saliva como ferramenta rotineira de triagem em atenção primária e rastreamento populacional.
8. Monitoramento longitudinal da resposta terapêutica: Tanto a espectroscopia FTIR quanto os biomarcadores inflamatórios apresentam potencial para avaliação dinâmica

do tratamento, possibilitando acompanhamento de resposta e detecção precoce de progressão.

9. Integração com plataformas de biópsia líquida: Investigações futuras podem explorar a complementariedade entre FTIR, marcadores inflamatórios, DNA tumoral circulante e exossomos, avançando na direção de uma abordagem multimodal de diagnóstico e prognóstico.
10. Tecnologia para uso clínico: A evolução tecnológica pode permitir o desenvolvimento de equipamentos compactos de FTIR para uso clínico direto, ampliando o acesso, especialmente em regiões com infraestrutura limitada.
11. Exploração dos mecanismos imunológicos associados às citocinas identificadas: Estudos básicos e translacionais poderão esclarecer o papel funcional da IL-1BETA e IL-10 na progressão tumoral e na resistência terapêutica, potencialmente identificando novos alvos terapêuticos.

REFERENCIAS

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew J.; PILLAI, Shiv. **Imunologia celular e molecular**. 8. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2015.

ABRÃO, Aline Lauria P.; FALCAO, Denise Pinheiro; AMORIM, Rivaldávio Fernandes Batista de; BEZERRA, Ana Cristina B.; POMBEIRO, Gilson Augusto N.M.; GUIMARÃES, Luciano Junqueira; et al. Salivary proteomics: a new adjuvant approach to the early diagnosis of familial juvenile systemic lupus erythematosus. **Medical Hypotheses**, v. 89, p. 97-100, abr. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mehy.2016.02.010>.

AFRAMIAN, Doron J.; DAVIDOWITZ, T.; BENOLIEL, R. The distribution of oral mucosal pH values in healthy saliva secretors. **Oral Diseases**, v. 12, n. 4, p. 420-423, jun. 2006. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-0825.2005.01217.x>.

AGOCHUKWU, Nneamaka Barbara; WONG, Lesley. Diabetic mastopathy: a systematic review of surgical management of a rare breast disease. **Annals of Plastic Surgery**, v. 78, n. 4, p. 471-475, 2017. DOI: 10.1097/SAP.0000000000000879

AHMAD, Narmeen; AMMAR, Aula; STORR, Sarah J.; GREEN, Andrew R.; RAKHA, Emad; ELLIS, Ian O.; et al. IL-6 and IL-10 are associated with good prognosis in early stage invasive breast cancer patients. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 67, n. 4, p. 537-549, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00262-017-2106-8>

AKIRA, Shizuo; TAGA, Tetsuya; KISHIMOTO, Tadamitsu. Interleukin-6 in biology and medicine. **Advances in immunology**, v. 54, p. 1-78, 1993. [https://doi.org/10.1016/S0065-2776\(08\)60532-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2776(08)60532-5)

ALLEMANI, Claudia; MATSUDA, Tomohiro; DI CARLO, Veronica; HAREWOOD, Rhea; MATZ, Melissa; NIKŠIĆ, Maja; 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**, v. 391, n. 10125, p. 1023-1075, 2018. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)33326-3

ALLIN, Kristine H.; NORDESTGAARD, Børge G. Elevated C-reactive protein in the diagnosis, prognosis, and cause of cancer. **Critical reviews in clinical laboratory sciences**, v. 48, n. 4, p. 155-170, 2011. <https://doi.org/10.3109/10408363.2011.599831>

ALLISON, Kimberly H.; HAMMOND, Elizabeth H.; DOWSETT, Mitchell; MCKERNIN, Shannon E.; CAREY, Lisa A.; FITZGIBBONS, Patrick L.; et al. Estrogen and Progesterone

Receptor Testing in Breast Cancer: ASCO/CAP guideline update. **Journal of Clinical Oncology**, v. 38, n. 12, p. 1346-1366, abr. 2020. <http://dx.doi.org/10.1200/jco.19.02309>.

AL-SAEED, Tarek. A.; KHALIL, Diaa A. Signal-to-noise ratio calculation in a moving-optical wedge spectrometer. **Applied optics**, v. 51, n. 30, p. 7206-7213, 2012. <https://doi.org/10.1364/AO.51.007206>

AMERICAN SOCIETY OF BREAST SURGEONS. [**Performance and Practice Guidelines for Mastectomy**]. Baltimore: ASBrS, 2024. Disponível em: <https://www.breastsurgeons.org/docs/statements/Performance-and-Practice-Guidelines-for-Mastectomy.pdf> Acesso em: 22 jul. 2025

AMIR, Lisa H.; BAEZA, Carmela; CHARLAMB, Jayne R.; JONES, Wendy. Identifying the cause of breast and nipple pain during lactation. **bmj**, 374, 2021. <https://doi.org/10.1136/bmj.n1628>

ANBER, N.; EL-SEBAIE, A. H.; MOUSA, S. A.; ELBAZ, O. Expression of some inflammatory biomarkers in patients with breast cancer. **International Journal of Health Sciences and Research**, v. 6, n. 2, p. 172-181, 2016. Disponível em: <https://encurtador.com.br/bQ4Ya> Acesso em: 30 jul. 2025

ANDLEEB, Farah; HAFEEZULLAH; ATIQ, Atia; ATIQ, Maria; MALIK, Sadia. Attenuated total reflectance spectroscopy to diagnose skin cancer and to distinguish different metastatic potential of melanoma cell. **Cancer Biomarkers**, v. 23, n. 3, p. 373-380, 2018. <https://doi.org/10.3233/CBM-181393>

APTE, Ron N.; DOTAN, Shahr; ELKABETS, Moshe; WHITE, Malka R.; REICH, Eli; CARMI, Yaron; et al. The involvement of IL-1 in tumorigenesis, tumor invasiveness, metastasis and tumor-host interactions. **Cancer and Metastasis Reviews**, v. 25, n. 3, p. 387-408, 2006. <https://doi.org/10.1007/s10555-006-9004-4>

AUSILI, Alessio; SÁNCHEZ, Marina; GÓMEZ-FERNÁNDEZ, Juan C. Attenuated total reflectance infrared spectroscopy: A powerful method for the simultaneous study of structure and spatial orientation of lipids and membrane proteins. **Biomedical Spectroscopy and Imaging**, v. 4, n. 2, p. 159-170, 2015. <https://doi.org/10.3233/BSI-150104>

BACKHAUS, Juergen; MUELLER, Ralf; FORMANSKI, Natalia; SZLAMA, Nicole; MEERPOHL, Hans-Gerd; EIDT, Manfred; et al. Diagnosis of breast cancer with infrared spectroscopy from serum samples. **Vibrational Spectroscopy**, v. 52, n. 2, p. 173-177, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2010.01.013>

BAGCHI, Arnab; PRAMANIK, Payel; SARKAR, Ram. A multi-stage approach to breast cancer classification using histopathology images. **Diagnostics**, v. 13, n. 1, p. 126-149, 2023. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13010126>

BAGNOLI, F.; BRENELLI, F.P.; PEDRINI, J.L.; JÚNIOR, R. D. F.; OLIVEIRA, V.M. **Mastologia: do diagnóstico ao tratamento**. Goiânia: Conexão propaganda e editora, 2017.

BAKER, Matthew J.; TREVISAN, Júlio; BASSAN, Paul; BHARGAVA, Rohit; BUTLER, Holly J.; DORLING, Konrad M.; et al. Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. **Nature protocols**, v. 9, n. 8, p. 1771-1791, 2014. <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.110>

BALAN, Vera; COSMIN-TEODOR, Mihai; FLORINA-DANIELA, Cojocaru; CRISTINA-MARIANA, Uritu; GIANINA, Dodi; DORU, Botezat; et al. Vibrational Spectroscopy Fingerprinting in Medicine: from Molecular to Clinical Practice. **Materials**, v. 12, n. 18, p. 2884, 2019. <https://doi.org/10.3390/ma12182884>

BANYAY, Martina; SANDBRINK, Jessica; STRÖMBERG, Roger; GRÄSLUND, Astrid. Characterization of an RNA bulge structure by Fourier transform infrared spectroscopy. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 324, n. 2, p. 634-639, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.09.098>

BARROS, Alfredo Carlos Simões Dornellas. Genética e epigenética: bases moleculares da formação inicial do câncer de mama. **Revista Brasileira de Mastologia**, v. 20, n. 1, p. 48-54, 2010. Disponível em: <https://revistamastology.emnuvens.com.br/rbm/article/view/15> Acesso em 18 jul. 2025

BARTH, Andreas. Infrared spectroscopy of proteins. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1767, n. 9, p. 1073-1101, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2007.06.004>

BEEKES, Michael; LASCH, Peter; NAUMANN, Dieter. Analytical applications of Fourier transform-infrared (FT-IR) spectroscopy in microbiology and prion research. **Veterinary microbiology**, v. 123, n. 4, p. 305-319, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.04.010>

BEHESHTI, Iraj; WESSELS, Linda M.; ECKFELDT, John H. EDTA-plasma vs serum differences in cholesterol, high-density-lipoprotein cholesterol, and triglyceride as measured by several methods. **Clinical chemistry**, v. 40, n. 11, p. 2088-2092, 1994. <https://doi.org/10.1093/clinchem/40.11.2088>

BELORIBI-DJEFAFLIA, S.; VASSEUR, S.; GUILLAUMOND, F. Lipid metabolic reprogramming in cancer cells. **Oncogenesis**, v. 5, n. 1, p. e189-e189, 2016. <https://doi.org/10.1038/oncsis.2015.49>

BENARD, Audrey; DESMEDT, Christine; SMOLINA, Margarita; SZTERNFELD, Philippe; VERDONCK, Magali; ROUAS, Ghizlane; et al. Infrared imaging in breast cancer: automated tissue component recognition and spectral characterization of breast cancer cells as well as the tumor microenvironment. **Analyst**, v. 139, n. 5, p. 1044-1056, 2014. <https://doi.org/10.1039/c3an01454a>

BENT, Rebekka; MOLL, Lorna; GRABBE, Stephan; BROS, Matthias. (2018). Interleukin-1 beta—a friend or foe in malignancies? **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 8, p. 2155, 2018. <https://doi.org/10.3390/ijms19082155>

BERG, Wendie A.; BLUME, Jeffrey D.; CORMACK, Jean B.; MENDELSON, Ellen B.; LEHRER, Daniel; BÖHM-VÉLEZ, Marcela; et al. Combined screening with ultrasound and mammography vs mammography alone in women at elevated risk of breast cancer. **Jama**, v. 299, n. 18, p. 2151-2163, 2008. doi:10.1001/jama.299.18.2151

BIANCHINI, Giampaolo; BALKO, Justin M.; MAYER, Ingrid A.; SANDERS, Melinda E.; GIANNI, Luca. (2016). Triple-negative breast cancer: challenges and opportunities of a heterogeneous disease. **Nature reviews Clinical oncology**, v. 13, n. 11, p. 674-690, 2016. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.66>

BILGIN, Burak; SENDUR, Mehmet Ali Nahit; HIZAL, Mutlu; DEDE, Didem Sener; AKINCI, Muhammed Bülent; KANDIL, Sümeyye Ulutas; et al. Prognostic effect of red cell distribution width-to-platelet ratio in colorectal cancer according to tumor stage and localization. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 15, n. 1, p. 54-60, 2019. DOI: 10.4103/jcrt.JCRT_624_17

BISHOP, Michael L. **Clinical chemistry: Principles, techniques, and correlations, enhanced edition: Principles, techniques, and correlations**. Jones & Bartlett Learning, 2020. Disponível em: <https://encurtador.com.br/h6ehA> Acesso em: 23 jul. 2025

BLAND, Kiby I.; COPELAND; Edward M. The Breast: Comprehensive Management of Benign and Malignant Diseases. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 92, n. 5, p. 973-974, 1993. <https://doi.org/10.1097/00006534-199392050-00031>

BOARO, Camila Macedo; DIEFENTHÄELER, Laura Mendonça; COSTA, Gabriela Krüger da; TISCOSKI, Katsuki Arima; ALVES, Rafael José Vargas; BERTO, Maiquidieli Dal; et al. Hematological ratios as prognostic indicators in patients with triple-negative breast cancer in southern Brazil. **Mastology**, v. 32, p. 1-8, 2022. <https://doi.org/10.29289/2594539420210059>

BRASIL. Ministério Da Saúde. Ministério da Saúde garante acesso a mamografia a partir dos 40 anos. 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2025/setembro/ministerio-da-saude-garante-acesso-a-mamografia-a-partir-dos-40-anos> Acesso em: 29 out. 2025

BRASIL. Ministério Da Saúde. **Portaria no 874, de 16 de maio de 2013**. Institui a política nacional para a prevenção e controle do câncer na rede de atenção à saúde das pessoas com doenças crônicas no âmbito do Sistema Único De Saúde (Sus). Brasília, DF: Ministério Da Saúde, 2013. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2013/prt0874_16_05_2013.html Acesso em: 30 jul. 2025

BRAY, Freddie; LAVERSANNE, Mathieu; SUNG, Hyuna; FERLAY, Jacques; SIEGEL, Rebecca L.; SOERJOMATARAM, Isabelle; et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 74, n. 3, p. 229-263, 2024. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>

BEL'SKAYA, Lyudmila V; SARF, Elena A; SOLOMATIN, Denis V; KOSENOK, Victor K. Metabolic features of saliva in breast Cancer patients. **Metabolites**, v. 12, n. 2, p. 166, 2022. <https://doi.org/10.3390/metabo12020166>

BROT, Marina De; KOSLOW, Mautner Starr; MUHSEN, Shirin; ANDRADE, Victor P.; MAMTANI, Anita; MURRAY, Melissa; et al. Pleomorphic lobular carcinoma in situ of the breast: a single institution experience with clinical follow-up and centralized pathology review. **Breast cancer research and treatment**, v. 165, n. 2, p. 411-420, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4334-1>

BUNACIU, Andrei A.; HOANG, Vu Dang; ABOUL-ENEIN, Hassan Y. Applications of FT-IR spectrophotometry in cancer diagnostics. **Critical reviews in analytical chemistry**, v. 45, n. 2, p. 156-165, 2015. <https://doi.org/10.1080/10408347.2014.904733>

BUNACIU, Andrei A.; HOANG, Vu Dang; ABOUL-ENEIN, Hassan Y. Vibrational micro-spectroscopy of human tissues analysis. **Critical reviews in analytical chemistry**, v. 47, n. 3, p. 194-203, 2017. <https://doi.org/10.1080/10408347.2016.1253454>

BURKE, Aileen; O'DRISCOLL, Jessica; ABUBAKAR, Mustapha; BENNETT, Kathleen E.; CARMODY, Emma; FLANAGAN, Fidelma; et al. A systematic review of determinants of breast cancer risk among women with benign breast disease. **NPJ Breast Cancer**, v. 11, n. 1, p. 16, 2025. <https://doi.org/10.1038/s41523-024-00703-w>

BURSTEIN, Harold J.; LACCHETTI, Christina; ANDERSON, Holly; BUCHHOLZ, Thomas A.; DAVIDSON, Nancy E.; GELMON, Karen A.; et al. Adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor–positive breast cancer: ASCO clinical practice guideline focused update. **Journal of Clinical Oncology**, v. 37, n. 5, p. 423-438, 2019.

<https://doi.org/10.1200/JCO.18.01160>

BURSTEIN, Harold J.; POLYAK, Kornelia; WONG, Julia S.; LESTER, Susan C.; KAELIN, Carolyn M. Ductal carcinoma in situ of the breast. **New England Journal of Medicine**, v. 350, n. 14, p. 1430-1441, 2004. DOI: 10.1056/NEJMra031301

BUTTERWORTH, P. J. Lehninger: principles of biochemistry (4th edn) DL Nelson and MC Cox, WH Freeman & Co., New York, 1119 pp (plus 17 pp glossary), ISBN 0-7167-4339-6, 2005. <https://doi.org/10.1002/cbf.1216>

CARDOSO, F.; COSTA, A.; NORTON, L.; CAMERON, D.; CUFER, T.; FALLOWFIELD, L.; et al. 4th ESO–ESMO international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 4). **Annals of Oncology**, v. 29, n. 8, p. 1634-1657, 2018.

<https://doi.org/10.1093/annonc/mdy192>

CARDOSO, F.; PALUCH-SHIMON, S.; SENKUS, E.; CURIGLIANO, G.; AAPRO, M.S.; ANDRÉ, F.; et al. 5th ESO-ESMO international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 5). **Annals of Oncology**, v. 31, n. 12, p. 1623-1649, 2020.

<https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.09.010>

CARDOSO, F.; KYRIAKIDES, S.; OHNO, S.; PENAULT-LLORCA, F.; POORTMANS, P.; RUBIO, I. T.; et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. **Annals of oncology**, v. 30, n. 8, p. 1194-1220, 2019.

<https://doi.org/10.1093/annonc/mdz173>

CASAL, Hector L.; MANTSCH, Henry H. Polymorphic phase behaviour of phospholipid membranes studied by infrared spectroscopy. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes**, v. 779, n. 4, p. 381-401, 1984. [https://doi.org/10.1016/0304-4157\(84\)90017-0](https://doi.org/10.1016/0304-4157(84)90017-0)

CASTELLS, Xavier; DOMINGO, Laia; COROMINAS, Josep María; TORÁ-ROCAMORA, Isabel; QUINTANA, María Jesús; BARÉ, Marisa; et al. Breast cancer risk after diagnosis by screening mammography of nonproliferative or proliferative benign breast disease: a study from a population-based screening program. **Breast cancer research and treatment**, v. 149, n. 1, p. 237-244, 2015. <https://doi.org/10.1007/s10549-014-3208-z>

CHABER, Radosław; KOWAL, Aneta; JAKUBCZYK, Paweł; ARTHUR, Christopher; ŁACH, Kornelia; WOJNAROWSKA-NOWAK, Renata; et al. A preliminary study of FTIR spectroscopy as a potential non-invasive screening tool for pediatric precursor B lymphoblastic leukemia. **Molecules**, v. 26, n. 4, p. 1174, 2021. <https://doi.org/10.3390/molecules26041174>

CHAN, K L Andrew; KAZARIAN, Sergei G. Attenuated total reflection Fourier-transform infrared (ATR-FTIR) imaging of tissues and live cells. **Chemical Society Reviews**, v. 45, n. 7, p. 1850-1864, 2016. <https://doi.org/10.1039/C5CS00515A>

CHANG, Chun-Ming; LAM, Ho Yin Pekkile; HSU, Hao-Jen; JIANG, Shinn-Jong. Interleukin-10: A double-edged sword in breast cancer. **Tzu chi medical journal**, v. 33, n. 3, p. 203-211, 2021. doi: 10.4103/tcmj.tcmj_162_20.

CHANG, Qing; BOURNAZOU, Eirini; SANSONE, Pasquale; BERISHAJ, Marjan; GAO, Sizhi Paul; DALY, Laura; et al. The IL-6/JAK/Stat3 feed-forward loop drives tumorigenesis and metastasis. **Neoplasia**, v. 15, n. 7, p. 848-IN45, 2013. <https://doi.org/10.1593/neo.13706>

CHAVEY, Carine; BIBEAU, Frédéric; GOURGOU-BOURGADE, Sophie; BURLINCHON, Sandrine; BOISSIÈRE, Florence; LAUNE, Daniel; et al. Oestrogen receptor negative breast cancers exhibit high cytokine content. **Breast Cancer Research**, v. 9, n. 1, p. R15, 2007. <https://doi.org/10.1186/bcr1648>

CHEN, Bo; DAI, Danian; TANG, Hailin; AI, Xiaohong; CHEN, Xi; ZHANG, Xiaoyan; et al. Pretreatment hematocrit is superior to hemoglobin as a prognostic factor for triple negative breast cancer. **PloS one**, v. 11, n. 11, p. e0165133, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165133>

CHEN, Jie; DENG, Qiwen; PAN, Yuqin; HE, Bangshun; YING, Houqun; SUN, Huiling; et al. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in breast cancer. **FEBS open bio**, v. 5, p. 502-507, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.fob.2015.05.003>

CHENB, Jing; HONG, Dongsheng; YOU, Zhai; SHEN, Peng. Meta-analysis of associations between neutrophil-to-lymphocyte ratio and prognosis of gastric cancer. **World journal of surgical oncology**, v. 13, n. 1, p. 122, 2015. <https://doi.org/10.1186/s12957-015-0530-9>

CHI, Gerald; LEE, Jane J. J.; MONTAZERIN, Sahar M.; MARSZALEK, Jolanta. Prognostic value of hemoglobin-to-red cell distribution width ratio in cancer: a systematic review and meta-analysis. **Biomarkers in Medicine**, v. 16, n. 6, p. 473-482, 2022. <https://doi.org/10.2217/bmm-2021-0577>

CHO, Uiju; PARK, Hong Sik; IM, So Young; YOO, Chang Young; JUNG, Ji Han; SUH, Young Jin; et al. Prognostic value of systemic inflammatory markers and development of a nomogram in breast cancer. **PloS one**, v. 13, n. 7, p. e0200936, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200936>

CIRIELLO, Giovanni; GATZA, Michael L.; BECK, Andrew H.; WILKERSON, Matthew D.; RHIE, Suhn K.; PASTORE, Alessandro; et al. Comprehensive molecular portraits of invasive lobular breast cancer. **Cell**, v. 163, n. 2, p. 506-519, 2015. doi: 10.1016/j.cell.2015.09.033.

CLEMENS, Graeme; HANDS, James R.; DORLING, Konrad M.; BAKER, Matthew J. Vibrational spectroscopic methods for cytology and cellular research. **Analyst**, v. 139, n. 18, p. 4411-4444, 2014. <https://doi.org/10.1039/C4AN00636D>

COATES, A. S.; WINER, E. P.; GOLDBIRSCH, A.; GELBER, R. D.; GNANT, M.; PICCART-GEBHART, M.; et al. Tailoring therapies—improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. **Annals of oncology**, v. 26, n. 8, p. 1533-1546, 2015. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv221>

COLLABORATIVE GROUP ON HORMONAL FACTORS IN BREAST CANCER. Type and timing of menopausal hormone therapy and breast cancer risk: individual participant meta-analysis of the worldwide epidemiological evidence. **The Lancet**, v. 394, n. 10204, p. 1159-1168, 2019. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31709-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31709-X)

CORBEAU, Ileana; THEZENAS, Simon; MARAN-GONZALEZ, Aurelie; COLOMBO, Pierre-Emmanuel; JACOT, William; GUIU, Severine. Inflammatory blood markers as prognostic and predictive factors in early breast cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy. **Cancers**, v. 12, n. 9, p. 2666, 2020. <https://doi.org/10.3390/cancers12092666>

CORBEAU, Iléana; JACOT, William; GUIU, Séverine. Neutrophil to lymphocyte ratio as prognostic and predictive factor in breast cancer patients: a systematic review. **Cancers**, v. 12, n. 4, p. 958, 2020. <https://doi.org/10.3390/cancers12040958>

CORTES, Javier; CESCION, David W.; RUGO, Hope S.; NOWECKI, Zbigniew; IM, Seock-Ah; YUSOF, Mastura Md; et al. Pembrolizumab plus chemotherapy versus placebo plus chemotherapy for previously untreated locally recurrent inoperable or metastatic triple-negative breast cancer (KEYNOTE-355): a randomised, placebo-controlled, double-blind, phase 3 clinical trial. **The Lancet**, v. 396, n. 10265, p. 1817-1828, 2020. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32531-9

COUPER, Kevin N.; BLOUNT, Daniel G.; RILEY, Eleanor M. IL-10: the master regulator of immunity to infection. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 9, p. 5771-5777, 2008. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.9.5771>

CURTIS, Christina; SHAH, Sohrab P.; CHIN, Suet-Feung; TURASHVILI, Gulisa; RUEDA, Oscar M.; DUNNING, Mark J.; et al. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups. **Nature**, v. 486, n. 7403, p. 346-352, 2012. <https://doi.org/10.1038/nature10983>

CUZICK, Jack; DOWSETT, Mitch; PINEDA, Silvia; WALE, Christopher; SALTER, Janine; QUINN, Emma; et al. Prognostic value of a combined estrogen receptor, progesterone receptor, Ki-67, and human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemical score and comparison with the Genomic Health recurrence score in early breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 29, n. 32, p. 4273-4278, 2011. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.31.2835>

DAWOOD, Shaheenah; CRISTOFANILLI, Massimo. Inflammatory breast cancer: what progress have we made? **Oncology**, v. 25, n. 3, p. 264-270, 2011. Disponível em: <https://www.proquest.com/openview/8d24403f0a5bafdb3c5704ebe438e529/1?pq-origsite=gscholar&cbl=38461> Acesso em: 21 de jul. 2025

DEMSAR, Janez; CURK, Tomaž; ERJAVEC, Aleš; GORUP, Črt; HOČEVAR, Tomaž; MILUTINOVIČ, Mitar; et al. Orange: data mining toolbox in Python. **The Journal of Machine Learning Research**, v. 14, n. 1, p. 2349-2353, 2013. Disponível em: <https://jmlr.org/papers/volume14/demsar13a/demsar13a.pdf> Acesso em: 18 jul. 2025

DENNING, Timothy L.; KIM, Gisen; KRONENBERG, Mitchell. Cutting edge: CD4+ CD25+ regulatory T cells impaired for intestinal homing can prevent colitis. **The Journal of Immunology**, v. 174, n. 12, p. 7487-7491, 2005. DOI: 10.4049/jimmunol.174.12.7487

DEPCIUCH, Joanna; SOWA-KUĆMA, Magdalena; NOWAK, Gabriel; DUDEK, Dominika; SIWEK, Marcin; STYCZEŃ, Krzysztof; et al. Phospholipid-protein balance in affective disorders: Analysis of human blood serum using Raman and FTIR spectroscopy. A pilot study. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 131, p. 287-296, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.08.037>

DEPCIUCH, Joanna; KAZNOWSKA, Ewa; ZAWLIK, Izabela; WOJNAROWSKA, Renata; CHOLEWA, Marian; HERAUD, Philip; et al. Application of Raman spectroscopy and infrared spectroscopy in the identification of breast cancer. **Applied spectroscopy**, v. 70, n. 2, p. 251-263, 2016. <https://doi.org/10.1177/0003702815620127>

DIAZ JUNIOR, Luis A.; BARDELLI, Alberto. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. **Journal of clinical oncology**, v. 32, n. 6, p. 579-586, 2014. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.45.2011>

DINARELLO, Charles A. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. **Immunological reviews**, v. 281, n. 1, p. 8-27, 2018. <https://doi.org/10.1111/imr.12621>

DINARELLO, Charles A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. **Annual review of immunology**, v. 27, n. 1, p. 519-550, 2009. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132612>

DIXON, J. Michael; KHAN, Lucy R. Treatment of breast infection. **Bmj**, v. 342, 2011. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.d396>

DMITRIEVA, O.S.; SHILOVSKIY, I.P.; KHAITOV, M.R.; GRIVENNIKOV, S. I. Interleukins 1 and 6 as main mediators of inflammation and cancer. **Biochemistry Moscow**, v. 81, n. 2, p. 80-90, 2016. <https://doi.org/10.1134/S0006297916020024>

DONG, Liu; SUN, Xuejun; CHAO, Zhang; ZHANG; Shiyun; ZHENG, Jianbao; GURUNG, Rajendra; et al. Evaluation of FTIR spectroscopy as diagnostic tool for colorectal cancer using spectral analysis. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 122, p. 288-294, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.11.031>

DONGRE, Anushka; WEINBERG, Robert A. New insights into the mechanisms of epithelial–mesenchymal transition and implications for cancer. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 20, n. 2, p. 69-84, 2019. doi:10.1038/s41580-018-0080-4

DOWSETT, Mitch; NIELSEN, Torsten O.; A'HERN, Roger; BARTLETT, John; COOMBES, R. Charles; CUZICK, Jack; et al. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 103, n. 22, p. 1656-1664, 2011. <https://doi.org/10.1093/jnci/djr393>

EARLY BREAST CANCER TRIALISTS' COLLABORATIVE GROUP. Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. **The Lancet**, v. 366, n. 9503, p. 2087-2106, 2005. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67887-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67887-7)

EDGE, Stephen B.; BYRD, David R.; COMPTON, Carolyn C.; FRITZ, April G.; GREENE, Frederick L.; TROTTI, Andy. **AJCC Cancer Staging Manual**. 7. ed. New York, NY:

Springer, 2010. Disponível em: <https://www.facs.org/media/kwupoct5/ajcc-7th-ed-cancer-staging-manual.pdf> Acesso em: 18 jul. 2025

EFARED, Boubacar; SIDIBÉ, Ibrahim S.; ABDOULAZIZ, Souley; HAMMAS, Nawal; CHBANI, Laila; EL FATEMI, Hinde. Tubular adenoma of the breast: a clinicopathologic study of a series of 9 cases. **Clinical Medicine Insights: Pathology**, v. 11, p. 1179555718757499, 2018. <https://doi.org/10.1177/1179555718757499>

ELKINS, Kelly M. Rapid presumptive “fingerprinting” of body fluids and materials by ATR FT-IR spectroscopy. **Journal of forensic sciences**, v. 56, n. 6, p. 1580-1587, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2011.01870.x>

ELLIS, David I.; GOODACRE, Royston. Metabolic fingerprinting in disease diagnosis: biomedical applications of infrared and Raman spectroscopy. **Analyst**, v. 131, n. 8, p. 875-885, 2006. <https://doi.org/10.1039/b602376m>

ELMI, Fatemeh; MOVAGHAR, Afshin Fayyaz; ELMI, Maryam Mitra; ALINEZHAD, Heshmatollah; NIKBAKSH, Novin. Application of FT-IR spectroscopy on breast cancer serum analysis. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 187, n. 5, p. 87-91, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.06.021>

EL-WAKEEL, H.; UMPLEBY, H. C. Systematic review of fibroadenoma as a risk factor for breast cancer. **The Breast**, v. 12, n. 5, p. 302-307, 2003. doi:10.1016/S0960-9776(03)00123-1

EMMELIN, N. Nerve interactions in salivary glands. **Journal of Dental Research**, v. 66, n. 2, p. 509-517, 1987. DOI: 10.1177/00220345870660022101

ENKE, C. G.; NIEMAN, Timothy A. Signal-to-noise ratio enhancement by least-squares polynomial smoothing. **Analytical Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 705A-712A, 1976. <https://doi.org/10.1021/ac50002a007>

EOH, Kyung-Jin; LEE, Tae-Kyung; NAM, Eun-Ji; KIM, Sang-Wun; KIM, Young-Tae. Clinical relevance of red blood cell distribution width (RDW) in endometrial cancer: A retrospective single-center experience from Korea. **Cancers**, v. 15, n. 15, p. 3984, 2023. <https://doi.org/10.3390/cancers15153984>

ETHIER, Josee-Lyne; DESAUTELS, Danielle; TEMPLETON, Arnoud; SHAH, Prakesh S.; AMIR, Eitan. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. **Breast Cancer Research**, v. 19, n. 1, p. 2, 2017. <https://doi.org/10.1186/s13058-016-0794-1>

FADLELMOULA, Ahmed; PINHO, Diana; CARVALHO, Vitor Hugo; CATARINO, Susana O.; MINAS, Graça. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy to analyse human blood over the last 20 years: a review towards lab-on-a-chip devices. **Micromachines**, v. 13, n. 2, p. 187, 2022. <https://doi.org/10.3390/mi13020187>

FAGUNDES, Jaciara; CASTILHO, Maiara L.; SOTO, Claudio A. Téllez; VIEIRA, Laís de Souza; CANEVARI, Renata A.; FÁVERO, Priscila P. et al. Ribosomal DNA nanoprobe studied by Fourier transform infrared spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 118, p. 28-35, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.08.057>

FANN, Jesse R.; THOMAS-RICH, Anne M.; KATON, Wayne J.; COWLEY, Deborah; PEPPING, Mary; MCGREGOR, Bonnie A. et al. Major depression after breast cancer: a review of epidemiology and treatment. **General hospital psychiatry**, v. 30, n. 2, p. 112-126, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.genhosppsych.2007.10.008>

FAVARO, Elena; BENSAD, Karim; CHONG, Mei G.; TENNANT, Daniel A.; FERGUSON, David J.P.; SNELL, Cameron; et al. Glucose utilization via glycogen phosphorylase sustains proliferation and prevents premature senescence in cancer cells. **Cell metabolism**, v. 16, n. 6, p. 751-764, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2012.10.017>

FENG, Yixiao; SPEZIA, Mia; HUANG, Shifeng; YUAN, Chengfu; ZENG, Zongyue; ZHANG, Linghuan et al. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. **Genes & diseases**, v. 5, n. 2, p. 77-106, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2018.05.001>

FERLAY, Jacques; COLOMBET, Murielle; SOERJOMATARAM, Isabelle; PARKIN, Donald M.; PIÑEROS, Marion; ZNAOR Ariana; et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. **International journal of cancer**, v. 149, n. 4, p. 778-789, 2021. <https://doi.org/10.1002/ijc.33588>

FERNANDES, César Eduardo; SÁ, Marcos Felipe Silva de MFS. **Tratado de ginecologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.

FERREIRA, Izabella C. C.; AGUIAR, Emília M. G.; SILVA, Alinne T. F.; SANTOS, Letícia L. D.; CARDOSO-SOUSA, Léia; ARAÚJO, Thaise G. et al. Attenuated Total Reflection-Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) spectroscopy analysis of saliva for breast cancer diagnosis. **Journal of oncology**, n. 1-11, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/4343590>

FIORENTINO, David F.; BOND, Martha W.; MOSMANN, Tim R. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1

clones. **The Journal of experimental medicine**, v. 170, n. 6, p. 2081-2095, 1989.
<https://doi.org/10.1084/jem.170.6.2081>

FISHER, Bernard; ANDERSON, Stewart; BRYANT, John; MARGOLESE, Richard G.; DEUTSCH, Melvin; FISHER, Edwin R.; et al. Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 347, n. 16, p. 1233-1241, 2002. DOI: 10.1056/NEJMoa022152

FORGET, Patrice; KHALIFA, Céline; DEFOUR, Jean-Philippe; LATINNE, Dominique; VAN PEL, Marie-Cécile; DE KOCK, Marc. What is the normal value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio? **BMC research notes**, v. 10, n. 1, p. 12, 2017.
<https://doi.org/10.1186/s13104-016-2335-5>

FRANCIES, Flavia Zita; HULL, Rodney; KHANYILE, Richard; DLAMINI, Zodwa. Breast cancer in low-middle income countries: abnormality in splicing and lack of targeted treatment options. **American journal of cancer research**, v. 10, n. 5, p. 1568-1591, 2020. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7269781/> Acesso em: 31 jul. 2025

FRIEDENREICH, Christine M.; NEILSON, Heather K.; FARRIS, Megan S.; COURNEYA, Kerry S. Physical activity and cancer outcomes: a precision medicine approach. **Clinical Cancer Research**, v. 22, n. 19, p. 4766-4775, 2016. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-0067>

FRINGELI, Urs Peter; GÜNTARD, Hs H. Infrared membrane spectroscopy. **Membrane spectroscopy**, p. 270-332, 1981. https://doi.org/10.1007/978-3-642-81537-9_6

FUJIMOTO, Toyoshi; PARTON, Robert G. Not just fat: the structure and function of the lipid droplet. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 3, n. 3, p. a004838, 2011. doi: 10.1101/cshperspect.a004838

FUNARO, Kimberly; ATAYA, Dana; NIELL, Bethany. Understanding the mammography audit. **Radiologic Clinics**, v. 59, n. 1, p. 41-55, 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.rcl.2020.09.009>

GALDIERO, Maria Rosaria; MARONE, Gianni; MANTOVANI, Alberto. Cancer inflammation and cytokines. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 10, n. 8, p. a028662, 2018. doi: 10.1101/cshperspect.a028662

GARRAWAY, Levi A.; VERWEIJ, Jaap; BALLMAN, Karla V. Precision oncology: an overview. **Journal of Clinical Oncology**, v. 31, n. 15, p. 1803-1805, 2013. <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.49.4799>

GAY, Laurie J.; FELDING-HABERMANN, Brunhilde. Contribution of platelets to tumour metastasis. **Nature Reviews Cancer**, v. 11, n. 2, p. 123-134, 2011. <https://doi.org/10.1038/nrc3004>

GEBRIM, Luiz Henrique. A detecção precoce do câncer de mama no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 5, p. eCO010516, 2016. <https://doi.org/10.1590/0102-311XCO010516>

GERLINGER, Marco; ROWAN, Andrew J.; HORSWELL, Stuart; LARKIN, James; ENDESFELDER, David; et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. **The New England Journal of Medicine**, v. 366, p. 883-892, 2012. doi: 10.1056/NEJMoal113205.

GIRIANELLI, Vania Reis; GAMARRA, Carmen Justina; AZEVEDO, Gulnar Azevedo. Os grandes contrastes na mortalidade por câncer do colo uterino e de mama no Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 48, n. 3, p. 459-467, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0034-8910.2014048005214>

GIULIANO, Armando E.; CONNOLLY, James L.; EDGE, Stephen B.; MITTENDORF Elizabeth A.; RUGO Hope S.; SOLIN, Lawrence J.; et al. Breast cancer—major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 67, n. 4, p. 290-303, 2017. <https://doi.org/10.3322/caac.21393>

GIULIANO, Armando E.; HUNT, Kelly K.; BALLMAN, Karla V.; BEITSCH, Peter D.; WHITWORTH, Pat W.; BLUMENCRANZ, Peter W.; et al. Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis: a randomized clinical trial. **Jama**, v. 305, n. 6, p. 569-575, 2011. doi:10.1001/jama.2011.90

GOLDHIRSCH, A.; WINER, E. P.; COATES, A. S.; GELBER, R. D.; PICCART-GEBHART, M.; THÜRLIMANN, B.; 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**, v. 24, n. 9, p. 2206-2223, 2013. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt303>

GONZÁLEZ-SOLÍS, José Luis; MARTÍNEZ-ESPINOSA, Juan Carlos; TORRES-GONZÁLEZ, Luis Adolfo; AGUILAR-LEMARROY, Adriana; JAVE-SUÁREZ, Luis Felipe; PALOMARES-ANDA, Pascual. Cervical cancer detection based on serum sample

Raman spectroscopy. **Lasers in medical science**, v. 29, n. 3, p. 979-985, 2013.
<https://doi.org/10.1007/s10103-013-1447-6>

GOODEN, M. J.; BOCK, G. H.; LEFFERS, N.; DAEMEN, T.; NIJMAN, H. W. (2011). The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. **British journal of cancer**, v. 105, n. 1, p. 93-103, 2011.
<https://doi.org/10.1038/bjc.2011.189>

GOYAL, Hemant; LIPPI, Giuseppe; GJYMISHKA, Altin; JOHN, Bijo; CHHABRA, Rajiv; MAY, Elizabeth. Prognostic significance of red blood cell distribution width in gastrointestinal disorders. **World journal of gastroenterology**, v. 23, n. 27, p. 4879, 2017.
 doi: 10.3748/wjg.v23.i27.4879

GRDADOLNIK, Jože. ATR-FTIR spectroscopy: Its advantage and limitations. **Acta Chimica Slovenica**, v. 49, n. 3, p. 631-642, 2002. Disponível em: <https://acta-arhiv.chem-soc.si/49/49-3-631.pdf> Acesso em: 31 jul. 2025

GRDADOLNIK, Jože. Saturation effects in FTIR spectroscopy: intensity of amide I and amide II bands in protein spectra. **Acta chimica slovenica**, v. 50, n. 4, p. 777-788, 2003. Disponível em: <https://acta-arhiv.chem-soc.si/50/50-4-777.pdf> Acesso em: 18 jul. 2025

GRIVENNIKOV, Sergei I.; GRETEN, Florian R.; KARIN, Michael. Immunity, inflammation, and cancer. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 883-899, 2010. DOI 10.1016/j.cell.2010.01.025

GRUBE, M.; ZAGREBA, E.; GROMOZOVA, E.; FOMINA, M. Comparative investigation of the macromolecular composition of mycelia forms *Thielavia terrestris* by infrared spectroscopy. **Vibrational spectroscopy**, v. 19, n. 2, p. 301-306, 1999.
[https://doi.org/10.1016/S0924-2031\(98\)00074-5](https://doi.org/10.1016/S0924-2031(98)00074-5)

GU, Liangyou; LI, Hongzhao; CHEN, Luyao; MA, Xin; LI, Xintao; GAO, Yu; et al. Prognostic role of lymphocyte to monocyte ratio for patients with cancer: evidence from a systematic review and meta-analysis. **Oncotarget**, v. 7, n. 22, p. 31926-31942, 2016. doi: 10.18632/oncotarget.7876

GUPTA, Dipti; MENDELSON, Ellen B.; KARST, Ingolf. Nipple discharge: current clinical and imaging evaluation. **American Journal of Roentgenology**, v. 216, n. 2, p. 330-339, 2020. <https://doi.org/10.2214/AJR.19.22025>

GUZIK, Paweł; GĘCA, Tomasz; TOPOLEWSKI, Paweł; HARPULA, Magdalena; PIROWSKI, Wojciech; KOZIEŁEK, Krzysztof; et al. Diabetic mastopathy. Review of

diagnostic methods and therapeutic options. **International journal of environmental research and public health**, v. 19, n. 1, p. 448, 2021. <https://doi.org/10.3390/ijerph19010448>

HACKSHAW, Allan K.; PAUL, Elizabeth A. Breast self-examination and death from breast cancer: a meta-analysis. **British journal of cancer**, v. 88, n. 7, p. 1047-1053, 2003. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600847>

HAMIDULLAH, Bendangla Changkija; KONWAR, Rituraj. Role of interleukin-10 in breast cancer. **Breast cancer research and treatment**, v. 133, n. 1, p. 11-21, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1855-x>

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646-674, 2011. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013

HANAHAN, Douglas. Hallmarks of cancer: new dimensions. **Cancer discovery**, v. 12, n. 1, p. 31-46, 2022. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>

HANDS, James R.; CLEMENS, Graeme; STABLES, Ryan; ASHTON, Katherine; BRODBELT, Andrew; DAVIS, Charles; et al. Brain tumour differentiation: rapid stratified serum diagnostics via attenuated total reflection Fourier-transform infrared spectroscopy. **Journal of neuro-oncology**, v. 127, n. 3, p. 463-472, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11060-016-2060-x>

HARBECK, Nadia; PENAULT-LLORCA, Frédérique; CORTES, Javier; GNANT, Michael; HOUSSAMI, Nehmat; POORTMANS, Philip; et al. Breast Cancer. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 5, p. 1-31, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0111-2>

HARTMANN, Lynn C.; SELLERS, Thomas A.; FROST, Marlene H.; LINGLE, Wilma L.; DEGNIM, Amy C.; GHOSH, Karthik; et al. Benign breast disease and the risk of breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 353, n. 3, p. 229-237, 2005. DOI: 10.1056/NEJMoa044383

HASEGAWA, Takuya; INAGAKI, Kazumi; HARAGUCHI, Hiroki. Multielement correlation analysis of major-to-trace elements in human blood serum for medical diagnosis as studied by ICP-AES and ICP-MS. **Analytical Sciences/Supplements**, v. 17, p. i979-i982, 2001. <https://doi.org/10.14891/analscisp.17icas.0.i979.0>

HASSIOTOU, Foteini; GEDDES, Donna. Anatomy of the human mammary gland: Current status of knowledge. **Clinical anatomy**, v. 26, n. 1, p. 29-48, 2013. <https://doi.org/10.1002/ca.22165> PMID:22997014

HE, Yu; QIAN, Liyuan; CHEN, Lang; LIU, Yang; WEN, Yanguang; CAO, Peiguo. Primary breast angiosarcoma: A case report. **Frontiers in Surgery**, v. 9, 2023. <https://doi.org/10.3389/fsurg.2022.966792>

HEER, Emily; HARPER, Andrew; ESCANDOR, Noah; SUNG, Hyuna; MCCORMACK, Valerie; FIDLER-BENAOUDIA, Miranda M. Global burden and trends in premenopausal and postmenopausal breast cancer: a population-based study. **The Lancet Global Health**, v. 8, n. 8, p. e1027-e1037, 2020. DOI: 10.1016/S2214-109X(20)30215-1

HIRATA, Bruna Karina Banin; ODA, Julie Massayo Maeda; GUEMBAROVSKI, Roberta Losi; ARIZA, Carolina Batista; OLIVEIRA, Carlos Eduardo Coral; WATANABE, Maria Angelica Ehara. Molecular markers for breast cancer: prediction on tumor behavior. **Disease markers**, v. 2014, n. 1, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/513158>

HOFMANN, S. R; RÖSEN-WOLFF, A; TSOKOS, G. C; HEDRICH, C.M. Biological properties and regulation of IL-10 related cytokines and their contribution to autoimmune disease and tissue injury. **Clinical immunology**, v. 143, n. 2, p. 116-127, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2012.02.005>

HU, Linhui; LI, Manman; DING, Yangyang; PU, Lianfang; LIU, Jun; XIE, Jingxin; et al. Prognostic value of RDW in cancers: a systematic review and meta-analysis. **Oncotarget**, v. 8, n. 9, p. 16027, 2016. doi: 10.18632/oncotarget.13784

HU, Ru-jin; LIU, Qin; MA, Jian-ying; ZHOU, Jing; LIU, Gang. Preoperative lymphocyte-to-monocyte ratio predicts breast cancer outcome: a meta-analysis. **Clinica chimica acta**, v. 484, p. 1-6, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.05.031>

HU, Zhide; SUN, Yi; WANG, Qianqian; HAN, Zhijun; HUANG, Yuanlan; LIU, Xiaofei; et al. Red blood cell distribution width is a potential prognostic index for liver disease. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 51, n. 7, p. 1403-1408, 2013. <https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0704>

HUANG, Du-Ping; MA, Rui-Min; XIANG, You-Qun. Utility of red cell distribution width as a prognostic factor in young breast cancer patients. **Medicine Baltimore**, v. 95, n. 17, p. e3430, 2016. doi: 10.1097/MD.0000000000003430

HUDSON-PHILLIPS, Sarah; GRAHAM, Gemma; COX, Kofi; AL SARAKBI, Wail. Fibroadenoma: a guide for junior clinicians. **British journal of hospital medicine**, v. 83, n. 10, p. 1-9, 2022. <https://doi.org/10.12968/hmed.2022.0070>

HUMPHREY, Sue P.; WILLIAMSON, Russell T. A review of saliva: normal composition, flow, and function. **The Journal of prosthetic dentistry**, v. 85, n. 2, p. 162-169, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1067/mpr.2001.113778>

HURSTING, Stephen D.; DIGIOVANNI, John; DANNENBERG, Andrew J.; AZRAD, Maria; LEROITH, Derek; DEMARK-WAHNEFRIED, Wendy; et al. Obesity, energy balance, and cancer: new opportunities for prevention. **Cancer prevention research**, v. 5, n. 11, p. 1260-1272, 2012. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-12-0140>

INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Controle do câncer de mama no Brasil: dados e números: 2024**. Rio de Janeiro: INCA, 2024. Disponível em: <https://ninho.inca.gov.br/jspui/handle/123456789/17002> Acesso em: 21 jul. 2025

IRANMAKANI, Sepideh; MORTEZAZADEH, Tohid; SAJADIAN, Fakhrossadat; GHAZIANI, Mona Fazel; GHAFARI, Ali; KHEZERLOO, Davood; et al. A review of various modalities in breast imaging: technical aspects and clinical outcomes. **Egyptian Journal of Radiology and Nuclear Medicine**, v. 51, n. 1, p. 57, 2020. <https://doi.org/10.1186/s43055-020-00175-5>

ISHIBASHI, Toshiyuki; KIMURA, Hideo; SHIKAMA, Yayoi; UCHIDA, Tatsumi; KARIYONE, Shigeo; HIRANO, Toshio; et al. Interleukin-6 is a potent thrombopoietic factor in vivo in mice. **Blood**, v. 74, n. 4, p. 1241-1244, 1989. <https://doi.org/10.1182/blood.V74.4.1241.1241>

IYER, Shankar Subramanian; CHENG, Gehong. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. **Critical Reviews™ in Immunology**, v. 32, n. 1, 2012. DOI: 10.1615/CritRevImmunol.v32.i1.30

JELLE, Bjørn Petter; NILSEN, Tom-Nils; HOVDE, Per Jostein; GUSTAVSEN, Arild. Accelerated climate aging of building materials and their characterization by Fourier transform infrared radiation analysis. **Journal of Building Physics**, v. 36, n. 1, p. 99-112, 2012. <https://doi.org/10.1177/1744259111423367>

JESINGER, Robert A. Breast anatomy for the interventionalist. **Techniques in vascular and interventional radiology**, v. 17, n. 1, p. 3-9, 2014. <https://doi.org/10.1053/j.tvir.2013.12.002>

JOHNSON, Daniel E.; O'KEEFE, Rachel A.; GRANDIS, Jennifer R. Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer. **Nature reviews Clinical oncology**, v. 15, n. 4, p. 234-248, 2018. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2018.8>

KADER, Tanjina; HILL, Prue; RAKHA, Emad A.; CAMPBELL, Ian G.; GORRINGE, Kylie L. Atypical ductal hyperplasia: update on diagnosis, management, and molecular landscape. **Breast Cancer Research**, v. 20, n. 1, p. 39, 2018. <https://doi.org/10.1186/s13058-018-0967-1>

KAMANDI, Neda; SOLEIMANIAN, Amirmohammad; ALLAHYARI, Abolghasem; KAMANDI, Mostafa. Prognostic role of red cell distribution width (RDW) in patients with diffuse large B-cell lymphoma. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP**, v. 24, n. 8, p. 2667–2672, 2023. doi: 10.31557/APJCP.2023.24.8.2667

KAPLAN, Edward L.; MEIER, Paul. Nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of the American statistical association**, v. 53, n. 282, p. 457-481, 1958. <https://doi.org/10.1080/01621459.1958.10501452>

KARCZEWSKA, Aldona; NAWROCKI, Sergiusz; BREBOROWICZ, Danuta; FILAS, Violetta; MACKIEWICZ, Andrzej. Expression of interleukin-6, interleukin-6 receptor, and glycoprotein 130 correlates with good prognoses for patients with breast carcinoma. **Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society**, v. 88, n. 9, p. 2061-2071, 2000. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0142\(20000501\)88:9<2061::AID-CNCR12>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(20000501)88:9<2061::AID-CNCR12>3.0.CO;2-O)

KAUFMAN, Eliasz; LAMSTER, Ira B. The diagnostic applications of saliva—a review. **Critical Reviews in oral biology & medicine**, v. 13, n. 2, p. 197-212, 2002. <https://doi.org/10.1177/154411130201300209>

KELLOFF, Gary J.; HOFFMAN, John M.; JOHNSON, Bruce; SCHER, Howard I.; SIEGEL, Barry A.; CHENG, Edward Y.; et al. Progress and promise of FDG-PET imaging for cancer patient management and oncologic drug development. **Clinical Cancer Research**, v. 11, n. 8, p. 2785-2808, 2005. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-2626>

KEMP, Aristilia Pricila Tahara; FERREIRA, Vitor Hugo Candido; MOBILE, Rafael Zancan; BRANDÃO, Thais Bianca; SASSI, Laurindo Moacir; ZARPELLON, Amanda; et al. Risk factors for medication-related osteonecrosis of the jaw and salivary IL-6 in cancer patients. **Brazilian journal of otorhinolaryngology**, v. 88, p. 683-690, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2020.09.010>

KENDALL, Catherine; ISABELLE, Martin; BAZANT-HEGEMARK, Florian; HUTCHINGS, Joanne; ORR, Linda; BABRAH, Jaspreet; et al. Vibrational spectroscopy: a clinical tool for cancer diagnostics. **Analyst**, v. 134, n. 6, p. 1029-1045, 2009. <https://doi.org/10.1039/b822130h>

KIMURA, Akihiro; KISHIMOTO, Tadamitsu. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. **European journal of immunology**, v. 40, n. 7, p. 1830-1835, 2010. <https://doi.org/10.1002/eji.201040391>

KOCH, Lena; BERTRAM, Heike; EBERLE, Andrea; HOLLECZEK, Bernd; SCHMID-HÖPFNER, Sieglinde; WALDMANN, Annika; et al. Fear of recurrence in long-term breast cancer survivors—still an issue. Results on prevalence, determinants, and the association with quality of life and depression from the Cancer Survivorship—a multi-regional population-based study. **Psycho-Oncology**, v. 23, n. 5, p. 547-554, 2014. <https://doi.org/10.1002/pon.3452>

KOMA, Yasuko; ONISHI, Akira; MATSUOKA, Hirofumi; ODA, Nã; YOKOTA, Naoya; MATSUMOTO, Yusuke; et al. Increased red blood cell distribution width associates with cancer stage and prognosis in patients with lung cancer. **PloS one**, v. 8, n. 11, p. 1-7, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080240>

KRAFFT, Christoph; STEINER, Gerald; BELEITES, Claudia; SALZER, Reiner. Disease recognition by infrared and Raman spectroscopy. **Journal of biophotonics**, v. 2, p. 13-28, 2009. <https://doi.org/10.1002/jbio.200810024>

KUMAR, S.; REENA; CHAUDHARY, S.; SWEETY; JAIN, Deep Chand. Vibrational studies of different human body disorders using FTIR spectroscopy. **Open Journal of Applied Sciences**, 2014. <https://doi.org/10.4236/ojapps.2014.43012>

KUMARI, Neeraj; DWARAKANATH, B. S.; DAS, Asmita; BHATT, Anant Narayan. Role of interleukin-6 in cancer progression and therapeutic resistance. **Tumor Biology**, v. 37, n. 9, p. 11553-11572, 2016. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5098-7>

LABELLE, Myriam; BEGUM, Shahinoor; HYNES, Richard O. Direct signaling between platelets and cancer cells induces an epithelial-mesenchymal-like transition and promotes metastasis. **Cancer cell**, v. 20, n. 5, p. 576-590, 2011. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.09.009

LANDAU, Dan A.; CARTER, Scott L.; STOJANOV, Petar; MCKENNA, Aaron; STEVENSON, Kristen; LAWRENCE, Michael S.; et al. Evolution and impact of subclonal mutations in chronic lymphocytic leukemia. **Cell**, v. 152, n. 4, p. 714-726, 2013. doi: 10.1016/j.cell.2013.01.019.

LANE, Randy; SEO, Seong S. Attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy method to differentiate between normal and cancerous breast cells. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 12, n. 9, p. 7395-7400, 2012. <https://doi.org/10.1166/jnn.2012.6582>

LANIGAN, F.; O'CONNOR, D.; MARTIN, F.; GALLAGHER, W. M. Molecular links between mammary gland development and breast cancer. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 64, n. 24, p. 3159-3184, 2007. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7386-2>

LAUBY-SECRETAN, Béatrice; SCOCCIANI, Chiara; LOOMIS, Dana; GROSSE, Yann; BIANCHINI, Franca; STRAIF, Kurt K. Body fatness and cancer—viewpoint of the IARC Working Group. **New England Journal of Medicine**, v. 375, n. 8, p. 794-798, 2016. DOI: 10.1056/NEJMSr1606602

LEE, Yu-Hsiang; WONG, David T. Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. **American journal of dentistry**, v. 22, n. 4, p. 241, 2009. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2860957/> Acesso em: 23 jul. 2025

LEHMANN, Brian D.; BAUER, Joshua A.; CHEN, Xi.; SANDERS, Melinda E.; CHAKRAVARTHY, A. Bapsi.; SHYR, Yu; et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 121, n. 7, p. 2750-2767, 2011. <https://doi.org/10.1172/JCI45014>.

LEWIS, Paul D.; LEWIS, Keir E.; GHOSAL, Robin; BAYLISS, Sion; LLOYD, Amanda J.; WILLS John.; et al. Evaluation of FTIR spectroscopy as a diagnostic tool for lung cancer using sputum. **BMC cancer**, v. 10, n. 1, p. 640, 2010. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-640>

LI, Fucheng; WANG, Youyu; DOU, He; CHEN, Xingyan; WANG, Jianan; XIAO, Min. Association of immune inflammatory biomarkers with pathological complete response and clinical prognosis in young breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy. **Frontiers in Oncology**, v. 14, 2024. doi: 10.3389/fonc.2024.1349021

LI, Haipeng; PENG, Shang; AN, Ran; DU, Nana; WU, Huan; ZHEN, Xiangcheng; et al. The prognostic role of lymphocyte-to-monocyte ratio in patients with resectable pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis. **PeerJ**, v. 12, 2024. <https://doi.org/10.7717/peerj.17585>

LI, Jinneng; YANG, Xiaoning; MA, Junfeng; GONG, Fanghua; CHEN, Qiongzen. Relationship of red blood cell distribution width with cancer mortality in hospital. **BioMed research international**, v. 2018, n. 1, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/8914617>

LI, Mu-Xing; LIU, Xue-Min; ZHANG, Xu-Feng; ZHANG, Jian-Fei; WANG, Wan-Li; ZHU, Ying; et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. **International journal of cancer**, v. 134, n. 10, p. 2403-2413, 2014. <https://doi.org/10.1002/ijc.28536>

LI, Xiaoxian; MA, Zhongliang; STYBLO, Toncred M.; ARCIERO, Cletus A.; WANG, Haibo; COHEN, Michael A. Management of high-risk breast lesions diagnosed on core biopsies and experiences from prospective high-risk breast lesion conferences at an academic institution. **Breast cancer research and treatment**, v. 185, n. 3, p. 573-581, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10549-020-05977-9>

LI, Zhuo; KANG, Yibin. Lipid metabolism fuels cancer's spread. **Cell metabolism**, v. 25, n. 2, p. 228-230, 2017. DOI: 10.1016/j.cmet.2017.01.016

LIMA, Lidiane Macêdo Alves de; BELIAN, Mônica Freire; SILVA, Wagner Eduardo da. **Química inorgânica medicinal: aspectos gerais e desafios para o desenvolvimento de metalofármacos**. 1. ed. Curitiba: Brazilian Journals Editora, 2024. 151 p. DOI: 10.35587/brj.ed.978-65-6016-061-3

LIMA_a, Kássio M. G.; GAJJAR, Ketan B.; MARTIN-HIRSCH, Pierre L.; MARTIN, Francis L. Segregation of ovarian cancer stage exploiting spectral biomarkers derived from blood plasma or serum analysis: ATR-FTIR spectroscopy coupled with variable selection methods. **Biotechnology progress**, v. 31, n. 3, p. 832-839, 2015. <https://doi.org/10.1002/btpr.2084>

LIMA_b, Cassio A.; GOULART, Viviane P.; CÔRREA, Luciana; PEREIRA, Thiago M.; ZEZEEL, Denise M. ATR-FTIR spectroscopy for the assessment of biochemical changes in skin due to cutaneous squamous cell carcinoma. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 4, p. 6621-6630, 2015. <https://doi.org/10.3390/ijms16046621>

LIPPI, Giuseppe; TARGHER, Giovanni; MONTAGNANA, Martina; SALVAGNO, Gian Luca; ZOPPINI, Giacomo; GUIDI, Gian Cesare. Relation between red blood cell distribution width and inflammatory biomarkers in a large cohort of unselected outpatients. **Archives of pathology & laboratory medicine**, v. 133, n. 4, p. 628-632, 2009. <https://doi.org/10.5858/133.4.628>

LIU, Suling; WICHA, Max S. Targeting breast cancer stem cells. **Journal of clinical oncology**, v. 28, n. 25, p. 4006-4012, 2010. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.27.5388>

LIU, Heshu; YAN, Rui; XIAO, Zeru; HUANG, Xuying; YAO, Jiannan; LIU, Jian; et al. Targeting DCLK1 attenuates tumor stemness and evokes antitumor immunity in triple-negative breast cancer by inhibiting IL-6/STAT3 signaling. **Breast Cancer Research**, v. 25, n. 1, p. 43, 2023. <https://doi.org/10.1186/s13058-023-01642-3>

LIU_a, Xiawei; YU, Hanjie; QIAO, Yan; YANG, Jiajun; SHU, Jian; ZHANG, Jiaxu; et al. Salivary Glycopatterns as Potential Biomarkers for Screening of Early-Stage Breast Cancer. **Ebiomedicine**, v. 28, p. 70-79, fev. 2018.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.01.026>

LIU_b, Jianfang; LICHTENBERG, Tara; HOADLEY, Katherine A.; POISSON, Laila M.; LAZAR, Alexander J.; CHERNIACK, Andrew D.; et al. An integrated TCGA pan-cancer clinical data resource to drive high-quality survival outcome analytics. **Cell**, v. 173, n. 2, p. 400-416. e11, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.052>

LLANES-FERNÁNDEZ, Leticia; ÁLVAREZ-GOYANES, Rosa Irene; ARANGO-PRADO, Maria Del Carmen; ALCOCER-GONZÁLEZ, Juan Manuel; MOJARRIETA, Julia Cruz; PÉREZ, Xiomara Escobar; et al. Relationship between IL-10 and tumor markers in breast cancer patients. **The Breast**, v. 15, n. 4, p. 482-489, 2006.
<https://doi.org/10.1016/j.breast.2005.09.012>

LOCONTE, Noelle K.; BREWSTER, Abenaa M.; KAUR, Judith S.; MERRILL, Janette K.; ALBERG, Anthony J. Alcohol and Cancer: a statement of the american society of clinical oncology. **Journal of Clinical Oncology**, v. 36, n. 1, p. 83-93, jan. 2018.
<http://dx.doi.org/10.1200/jco.2017.76.1155>.

LOSADA, B.; GUERRA, J. A.; MALÓN, D.; JARA, C.; RODRIGUEZ, L.; BARCO, S. Del. Pretreatment neutrophil/lymphocyte, platelet/lymphocyte, lymphocyte/monocyte, and neutrophil/monocyte ratios and outcome in elderly breast cancer patients. **Clinical and Translational Oncology**, v. 21, n. 7, p. 855-863, 2019. <https://doi.org/10.1007/s12094-018-1999-9>

MA, Liwei; GUO, Huiling; ZHAO, Yunxiang; LIU, Zhibo; WANG, Chenran; BU, Jiahao; et al. Liquid biopsy in cancer: current status, challenges and future prospects. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 9, n. 1, p. 336, 2024.
<https://doi.org/10.1038/s41392-024-02021-w>

MACIAS, Hector; HINCK, Lindsay. Mammary gland development. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology**, v. 1, n. 4, p. 533-557, 2012.
<https://doi.org/10.1002/wdev.35>

MACKANOS, Mark A.; CONTAG, Christopher H. Fiber-optic probes enable cancer detection with FTIR spectroscopy. **Trends in biotechnology**, v. 28, n. 6, p. 317-323, 2010.
 DOI: 10.1016/j.tibtech.2010.04.001

MAHMOUD, Waleed; ANSARI, Walid El; HASSAN, Sara; ALATASI, Sali; ALMEREKHI, Haya; JUNEJO, Kulsoom. Giant mammary hamartoma in a middle aged female. Case report

and review of literature of the last 15 years. **International Journal of Surgery Case Reports**, v. 78, p. 145-150, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijscr.2020.11.139>

MALAMUD, Daniel; RODRIGUEZ-CHAVEZ, Isaac R. Saliva as a diagnostic fluid. **Dental Clinics of North America**, v. 55, n. 1, p. 159, 2011. DOI: 10.1016/j.cden.2010.08.004

MANDEL, Irwin D. The diagnostic uses of saliva. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 19, n. 3, p. 119-125, 1990. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1990.tb00809.x>

MANTOVANI, Alberto; BARAJON, Isabella; GARLANDA, Cecilia. IL-1 and IL-1 regulatory pathways in cancer progression and therapy. **Immunological reviews**, v. 281, n. 1, p. 57-61, 2018. <https://doi.org/10.1111/imr.12614>

MANTOVANI, Alberto; MARCHESI, Federica; MALESCI, Alberto; LAGHI, Luigi; ALLAVENA, Paola. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. **Nature reviews Clinical oncology**, v. 14, n. 7, p. 399-416, 2017. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.217>

MARTINEZ-CUAZITL, Adriana; VAZQUEZ-ZAPIEN, Gustavo J.; SANCHEZ-BRITO, Miguel; LIMON-PACHECO, Jorge H.; GUERRERO-RUIZ, Melissa; GARIBAY-GONZALEZ, Francisco; et al. ATR-FTIR spectrum analysis of saliva samples from COVID-19 positive patients. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 19980, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99529-w>

MARTINI, Frederich. **Fundamentals of anatomy & physiology**. San Francisco, CA: Pearson Benjamin Cummings; 2006. pp. 640–643.

MAURI, Claudia; BOSMA, Anneleen. Immune regulatory function of B cells. **Annual review of immunology**, v. 30, n. 1, p. 221-241, 2012. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-074934>

MEDIPALLY, Dinesh K. R.; CULLEN, Daniel; UNTEREINER, Valérie; SOCKALINGUM, Ganesh D.; MAGUIRE, Adrian; NGUYEN, Thi Nguyet Que; et al. Vibrational spectroscopy of liquid biopsies for prostate cancer diagnosis. **Therapeutic advances in medical oncology**, v. 12, 2020. <https://doi.org/10.1177/1758835920918499>

MEO, Ashley Di; BARLETT, Jenni; CHENG, Yufeng; PASIC, Maria D.; YOUSEF, George M. Liquid biopsy: a step forward towards precision medicine in urologic malignancies. **Molecular cancer**, v. 16, n. 1, p. 80, 2017. <https://doi.org/10.1186/s12943-017-0644-5>

MIGNOLET, Alix; GOORMAGHTIGH, Erik. High throughput absorbance spectra of cancerous cells: a microscopic investigation of spectral artifacts. **Analyst**, v. 140, n. 7, p. 2393-2401, 2015. <https://doi.org/10.1039/C4AN01834F>

MINISTÉRIO DA SAÚDE. [Câncer de mama: saiba como reconhecer os 5 sinais de alerta]. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-brasil/prevencao-ao-cancer/cancer-de-mama-saiba-como-reconhecer-os-5-sinais-de-alerta>. Acesso em: 22 jul. 2025.

MOCELLIN, Simone; PANELLI, Monica C; WANG, Ena; NAGORSEN, Dirk; MARINCOLA, Francesco M. The dual role of IL-10. **Trends in immunology**, v. 24, n. 1, p. 36-43, 2003. DOI: 10.1016/S1471-4906(02)00009-1

MODI, Shanu; SAURA, Cristina; YAMASHITA, Toshinari; PARK, Yeon Hee; KIM, Sung-Bae; TAMURA, Kenji; et al. Trastuzumab Deruxtecan in Previously Treated HER2-Positive Breast Cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 7, p. 610-621, fev. 2020. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1914510>

MONTAGNANA, Martina; DANESE, Elisa. Red cell distribution width and cancer. **Annals of translational medicine**, v. 4, n. 20, p. 399, 2016. DOI: 10.21037/atm.2016.10.50

MOORE, Keith L.; DALLEY, Arthur F.; AGUR, Anne M. R. **Anatomia orientada para a clínica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

MOORE, Kevin W.; MALEFYT, Rene de Waal; COFFMAN, Robert L.; O'GARRA, Anne. Interleukin-10 and the Interleukin-10 Receptor. **Annual Review of Immunology**, v. 19, n. 1, p. 683-765, abr. 2001. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.683>.

MOSTACO-GUIDOLIN, Leila Buettner; MURAKAMI, Luciana Sayuri; NOMIZO, Auro; BACHMANN, Luciano. Fourier transform infrared spectroscopy of skin cancer cells and tissues. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 44, n. 5, p. 438-455, 2009. <https://doi.org/10.1080/05704920903042098>

MOVASAGHI, Zanyar; REHMAN, Shazza; UR REHMAN, Dr Ihtesham. Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 43, n. 2, p. 134-179, 2008. <https://doi.org/10.1080/05704920701829043>

MUMM, John B.; EMMERICH, Jan; ZHANG, Xueging; CHAN, Ivan; WU, Lingling; MAUZE, Smita; et al. IL-10 elicits IFN γ -dependent tumor immune surveillance. **Cancer cell**, v. 20, n. 6, p. 781-796, 2011. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.11.003

NAING, Aung; INFANTE, Jeffrey R.; PAPADOPOULOS, Kyriakos. P.; CHAN, Ivan H.; SHEN, Cong; RATTI, Navneet P.; et al. PEGylated IL-10 (Pegilodecakin) induces systemic immune activation, CD8⁺ T cell invigoration and polyclonal T cell expansion in cancer patients. **Cancer Cell**, v. 34, n. 5, p. 775-791. e3, 2018. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.10.007

NAKHLIS, Faina; BAKER, Gabrielle M.; PILEWSKIE, Melissa; GELMAN, Rebecca; CALVILLO, Katherina Z.; LUDWIG, Kandice; et al. The Incidence of Adjacent Synchronous Invasive Carcinoma and/or Ductal Carcinoma In Situ in Patients with Intraductal Papilloma without Atypia on Core Biopsy: results from a prospective multi-institutional registry (TBCRC 034). **Annals of Surgical Oncology**, v. 28, n. 5, p. 2573-2578, 12 out. 2020. <http://dx.doi.org/10.1245/s10434-020-09215-w>

NAROD, Steven A.; IQBAL, Javaid; GIANNAKEAS, Vasily; SOPIK, Victoria; SUN, Ping. Breast Cancer Mortality After a Diagnosis of Ductal Carcinoma In Situ. **Jama Oncology**, v. 1, n. 7, p. 888, 1 out. 2015. <http://dx.doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.2510>

NASCIMENTO, Dulce Maria Azevedo; SILVA, Rosangela Thomé da; GALHARDO, Alessandro Temóteo. Câncer de Mama: Fatores de Risco e Prevenção. **Estudos Avançados sobre Saúde e Natureza**, v. 18, 2024. <https://doi.org/10.51249/easn18.2024.1956>

NASSAR, Aziza; POOJA, Advani; CHIVUKULA, Mamatha. HER2 testing across practices—have we come to a consensus on the ideal method of testing? A systematic literature review. **The Breast Journal**, v. 26, n. 6, p. 1185-1188, 2020. <https://doi.org/10.1111/tbj.13867>

NASSER, Haydar A.; ASSAF, Sarah; AOUAD, Ghadir; MOUAWAD, Yara; ELAMELY, Sabah. Breast manifestations of type I diabetes mellitus. **Breast Journal**, v. 26, n. 10, 2020. DOI: 10.1111/tbj.13938

NATER, Urs Markus; MARCA, Roberto La; FLORIN, Ladina; MOSES, Anthony; LANGHANS, Wolfgang; KOLLER, Markus M.; et al. Stress-induced changes in human salivary alpha-amylase activity—associations with adrenergic activity. **Psychoneuroendocrinology**, v. 31, n. 1, p. 49-58, 2006. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2005.05.010

NATIONAL CANCER INSTITUTE. [**Breast Anatomy**], criada por Don Bliss. 2012. Disponível em: <https://visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=9306> Acesso em: 27 nov. 2025

NAVAZESH, Mahvash. Methods for collecting saliva. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 694, n. 1, p. 72-77, 1993. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1993.tb18343.x>

NAVAZESH, Mahvash; KUMAR, Satish KS. Measuring salivary flow: challenges and opportunities. **The Journal of the American Dental Association**, v. 139, p. 35S-40S, 2008. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2008.0353>

NI, Xiao-Jian; ZHANG, Xiao-Lan; OU-YANG, Qian-Wen; WANG, Lei; CHEN, Sheng; JIANG, Yi-Zhou; et al. An elevated peripheral blood lymphocyte-to-monocyte ratio predicts favorable response and prognosis in locally advanced breast cancer following neoadjuvant chemotherapy. **PloS one**, v. 9, n. 11, p. e111886, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111886>

OLLESCH, Julian; THEEGARTEN, Dirk; ALTMAYER, Matthias; DARWICHE, Kaid; HAGER, Thomas; STAMATIS, Georgios; et al. An infrared spectroscopic blood test for non-small cell lung carcinoma and subtyping into pulmonary squamous cell carcinoma or adenocarcinoma. **Biomedical Spectroscopy And Imaging**, v. 5, n. 2, p. 129-144, 29 mar. 2016. <http://dx.doi.org/10.3233/bsi-160144>.

ONCOGUIA. [Fatores de risco para câncer de mama não mutáveis]. 2024. Disponível em: <https://encurtador.com.br/Ax2nB>. Acesso em: 23 jul. 2025.

PEREIRA, Bernard; CHIN, Suet-Fueng; RUEDA, Oscar M.; VOLLAN, Hans-Kristian Moen; PROVENZANO, Elena; BARDWELL, Helen A.; et al. The somatic mutation profiles of 2,433 breast cancers refine their genomic and transcriptomic landscapes. **Nature communications**, v. 7, n. 1, p. 11479, 2016. <https://doi.org/10.1038/ncomms11479>

PEROU, Charles M.; SØRLIE, Therese; EISEN, Michael B.; RIJN, Matt Van de; JEFFREY, Stefanie S.; REES, Christian A.; et al. Molecular portraits of human breast tumours. **Nature**, v. 406, n. 6797, p. 747-752, 17 ago. 2000. <http://dx.doi.org/10.1038/35021093>.

PFAFFE, Tina; COOPER-WHITE, Justin; BEYERLEIN, Peter; KOSTNER, Karam; PUNYADEERA, Chamindie. Diagnostic Potential of Saliva: current state and future applications. **Clinical Chemistry**, v. 57, n. 5, p. 675-687, 2011. <http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2010.153767>.

PHUNG, Minh Tung; TIN TIN, Sandar; ELWOOD, J. Mark. Prognostic models for breast cancer: a systematic review. **BMC cancer**, v. 19, n. 1, p. 230, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5442-6>

PICCART, Martine; RUTGERS, Emiel; VEER, Laura Van't; SLAETS, Leen; DELALOGÉ, Suzette; VIALE, Giuseppe; et al. Abstract CT039: Primary analysis of the EORTC 10041/BIG 3-04 MINDACT study: A prospective, randomized study evaluating the clinical utility of the 70-gene signature (MammaPrint) combined with common clinical-pathological criteria for selection of patients for adjuvant chemotherapy in breast cancer with 0 to 3 positive nodes. **Cancer Research**, v. 76, n. 14 Supplement, p. CT039-CT039, 2016. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2016-CT039>

PINHO, Salomé S.; REIS, Celso A. Glycosylation in cancer: mechanisms and clinical implications. **Nature Reviews Cancer**, v. 15, n. 9, p. 540-555, 2015. <https://doi.org/10.1038/nrc3982>

PINK, Richard; SIMEKA, Jiri; VONDRAKOVAB, Jana; FABERB, Edgar; MICHLA, Petr; PAZDERAA, Jindrich; et al. Saliva as a diagnostic medium. **Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc**, v. 153, n. 2, 2009. <https://doi.org/10.5507/bp.2009.017>

POLYAK, Kornelia et al. Heterogeneity in breast cancer. **The Journal of clinical investigation**, v. 121, n. 10, p. 3786-3788, 2011. <https://doi.org/10.1172/JCI60534>.

POLYAK, Kornelia et al. Breast cancer: origins and evolution. **The Journal of clinical investigation**, v. 117, n. 11, p. 3155-3163, 2007. <https://doi.org/10.1172/JCI33295>

PRABHAKAR, Santosh; JAIN, Nivedita; SINGH, R. A. **FT-IR spectroscopy as a bio-diagnostic tool for detection of leukemia**. *Emerging Trends in Laser & Spectroscopy and Applications*, 2010th ed.; Allied Publishers: New Delhi, India, p. 337-341, 2010.

PRAT, Aleix; PINEDA, Estela; ADAMO, Barbara; GALVÁN, Patricia; FERNÁNDEZ, Aranzazu; GABA, Lydia; et al. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. **The Breast**, v. 24, p. S26-S35, nov. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.breast.2015.07.008>.

PRICE, Jeremy. **Handbook of breast MRI**. Cambridge University Press, 2011. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139084833>

PROCTOR, Gordon B.; CARPENTER, Guy H. Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. **Autonomic Neuroscience**, v. 133, n. 1, p. 3-18, 2007. DOI: 10.1016/j.autneu.2006.10.006

PSYCHOGIOS, Nikolaos; HAU, David D.; GUO, An Chi; MANDAL, Rupasri; BOUATRA, Souhaila; SINELNIKOV, Igor; et al. The human serum metabolome. **PloS one**, v. 6, n. 2, p. e16957, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016957>

QIAN, Bin-Zhi; POLLARD, Jeffrey W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. **Cell**, v. 141, n. 1, p. 39-51, 2010. DOI: 10.1016/j.cell.2010.03.014

QUAIL, Daniela F.; JOYCE, Johanna A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. **Nature medicine**, v. 19, n. 11, p. 1423-1437, 2013. <https://doi.org/10.1038/nm.3394>

RADIŁAUSKAS, Ričardas; KUZMICKIENĖ, Irena; MILINAVIČIENĖ, Eglė; EVERATT, Rūta. Hypertension, serum lipids and cancer risk: a review of epidemiological evidence. **Medicina**, v. 52, n. 2, p. 89-98, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medici.2016.03.002>.

RAKHA, Emad A.; REIS-FILHO, Jorge S.; BAEHNER, Frederick; DABBS, David J.; DECKER, Thomas; EUSEBI, Vincenzo; et al. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. **Breast cancer research**, v. 12, n. 4, p. 207, 2010. <https://doi.org/10.1186/bcr2607>

REICH, Michel. Depression and cancer: recent data on clinical issues, research challenges and treatment approaches. **Current opinion in oncology**, v. 20, n. 4, p. 353-359, 2008. DOI: 10.1097/CCO.0b013e3282fc734b

RIDKER, Paul M.; EVERETT, Brendan M.; THUREN, Tom; MACFADYEN, Jean G.; CHANG, William H.; BALLANTYNE, Christie; et al. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. **New England journal of medicine**, v. 377, n. 12, p. 1119-1131, 2017. DOI: 10.1056/NEJMoal707914

RIEPPPO, L.; SAARAKKALA, S.; NÄRHI, T.; HELMINEN, H. J.; JURVELIN, J. S.; RIEPPPO, J. Application of second derivative spectroscopy for increasing molecular specificity of fourier transform infrared spectroscopic imaging of articular cartilage. **Osteoarthritis and cartilage**, v. 20, n. 5, p. 451-459, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2012.01.010>

RIFAI, Nader; HORVATH, Andrea Rita; WITTEWER, Carl T. **Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics 8 e; South Asia edition; E-book**. Elsevier Health Sciences, 2019.

ROCK, Cheryl L.; THOMSON, Cynthia; GANSLER, Ted; GAPSTUR, Susan M.; MCCULLOUGH, Marjorie L.; PATEL, Alpa V.; et al. American Cancer Society guideline for diet and physical activity for cancer prevention. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 70, n. 4, p. 245-271, 2020. <https://doi.org/10.3322/caac.21591>

ROMÁN, Marta; LOURO, Javier; POSSO, Margarita; ALCÁNTARA, Rodrigo; PEÑALVA, Lupe; SALA, Maria; et al. Breast density, benign breast disease, and risk of breast cancer over time. **European radiology**, v. 31, n. 7, p. 4839-4847, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00330-020-07490-5>

RUBIO, Alejandra Ivars; YUFERA, Juan Carlos; MORENA, Pilar de La; SÁNCHEZ, Ana Fernández; MANZANO, Esther Navarro; GARRE, Elisa García; et al. Neutrophil-lymphocyte ratio in metastatic breast cancer is not an independent predictor of survival, but depends on other variables. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53606-3>

RUFFELL, Brian; AFFARA, Nesrine I.; COUSSENS, Lisa M. Differential macrophage programming in the tumor microenvironment. **Trends in immunology**, v. 33, n. 3, p. 119-126, 2012. DOI: 10.1016/j.it.2011.12.001

SAGINI, Krizia; URBANELLI, Lorena; BURATTA, Sandra; EMILIANI, Carla; LLORENTE, Alicia. Lipid biomarkers in liquid biopsies: novel opportunities for cancer diagnosis. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 2, p. 437, 2023. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020437>

SALGADO, Roberto; JUNIUS, Sara; BENOY, Ina; DAM, Peter Vam; VERMEULEN, Peter; MARCK, Eric Van; et al. Circulating interleukin-6 predicts survival in patients with metastatic breast cancer. **International journal of cancer**, v. 103, n. 5, p. 642-646, 2003. <https://doi.org/10.1002/ijc.10833>

SALTA, Sofia; NUNES, Sandra P.; FONTES-SOUSA, Mário; LOPES, Paula; FREITAS, Micaela; CLADAS, Margarida; et al. A DNA methylation-based test for breast cancer detection in circulating cell-free DNA. **Journal of clinical medicine**, v. 7, n. 11, p. 420, 2018. <https://doi.org/10.3390/jcm7110420>

SALVAGNO, Gian Luca; Sanchis-Gomar, Fabian; Picanza, Alessandra; LIPPI, Giuseppe. Red blood cell distribution width: a simple parameter with multiple clinical applications. **Critical reviews in clinical laboratory sciences**, v. 52, n. 2, p. 86-105, 2015. <https://doi.org/10.3109/10408363.2014.992064>

SANCHEZ-VEGA, Francisco; MINA, Marco; ARMENIA, Joshua; CHATILA, Walid K.; LUNA, Augustin; LA, Konnor C.; et al. Oncogenic signaling pathways in the cancer genome atlas. **Cell**, v. 173, n. 2, p. 321-337. e10, 2018. DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.035

SANSONE, Pasquale; STORCI, Gianluca; TAVOLARI, Simona; GUARNIERI, Tiziana; GIOVANNINI, Catia; TAFFURELLI, Mario; et al. IL-6 triggers malignant features in mammospheres from human ductal breast carcinoma and normal mammary gland. The **Journal of clinical investigation**, v. 117, n. 12, p. 3988-4002, 2007. DOI: 10.1172/JCI32533

SASLOW, Debbie; BOETES, Carla; BURKE, Wylie; HARMS, Steven; LEACH, Martin O.; LEHMAN, Constance D.; et al. American Cancer Society guidelines for breast screening with MRI as an adjunct to mammography. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 57, n. 2, p. 75-89, 2007. <https://doi.org/10.3322/canjclin.57.2.75>

SAWCZUK, Beata; MACIEJCZYK, Mateusz; SAWCZUK-SIEMIENIUK, Magdalena; POSMYK, Renata; ZALEWSKA, Anna; CAR, Halina. Salivary gland function, antioxidant defence and oxidative damage in the saliva of patients with breast cancer: does the BRCA1 mutation disturb the salivary redox profile? **Cancers**, v. 11, n. 10, p. 1501, 2019. <https://doi.org/10.3390/cancers11101501>

SAXENA, Ankit; KHOSRAVIANI, Sam; NOEL, Sanjeev; MOHAN, Divya; DONNER, Thomas; HAMAD, Rahim A. Interleukin-10 paradox: A potent immunoregulatory cytokine that has been difficult to harness for immunotherapy. **Cytokine**, v. 74, n. 1, p. 27-34, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.10.031>

SCARDINA, Lorenzo; LEONE, Alba Di; MAGNO, Stefano; FRANCO, Antonio; BIONDI, Ersilia; SANCHEZ, Alejandro Martin; et al. Paget's disease of the breast: our 20 years' experience. **Frontiers in Oncology**, v. 12, p. 995442, 2022. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.995442>

SCHMID, Peter; ADAMS, Sylvia; RUGO, Hope S.; SCHNEEWEISS, Andreas; BARRIOS, Carlos H.; IWATA, Hiroji; et al. Atezolizumab and nab-paclitaxel in advanced triple-negative breast cancer. **New England journal of medicine**, v. 379, n. 22, p. 2108-2121, 2018. DOI: 10.1056/NEJMoa1809615

SCHNEIDER, Matthias; SCHÄFER, Niklas; APALLAS, Stefanos; POTTHOFF, Anna-Laura; BODE, Christian; GÜRESIR, Erdem; et al. Red blood cell distribution width to platelet ratio substantiates preoperative survival prediction in patients with newly-diagnosed glioblastoma. **Journal of neuro-oncology**, v. 154, n. 2, p. 229-235, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11060-021-03817-4>

SCHNITT, Stuart J. Pathology of benign breast disorders. **Breast diseases**, v. 90, 2000.

SCHULTZ, Christian P. The potential role of Fourier transform infrared spectroscopy and imaging in cancer diagnosis incorporating complex mathematical methods. **Technology in cancer research & treatment**, v. 1, n. 2, p. 95-104, 2002. <https://doi.org/10.1177/153303460200100201>

SCOCCIANI, Chiara; CECCHINI, Michele; ANDERSON, Annie S.; BERRINO, Franco; BOUTRON-RUAULT, Christine; ESPINA, Carolina; et al. European Code against Cancer 4th Edition: Alcohol drinking and cancer. **Cancer epidemiology**, v. 45, p. 181-188, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2016.09.011>

SENGUPTA, Sanjay; PAL, Subrata; BISWAS, Biplab Kr; PHUKAN, Jyoti Prakash; SINHA, Anuradha; SINHA, Rajani. Preoperative diagnosis of tubular adenoma of breast—10 years of experience. **North American Journal of Medical Sciences**, v. 6, n. 5, p. 219, 2014. DOI: 10.4103/1947-2714.132940

SERETIS, Charalampos; SERETIS, Fotios; LAGOUDIANAKIS, Emmanouil; GEMENETZIS, George; SALEMIS, Nikolaos S. Is red cell distribution width a novel biomarker of breast cancer activity? Data from a pilot study. **Journal of clinical medicine research**, v. 5, n. 2, p. 121, 2013. DOI: 10.4021/jocmr1214w

SHARMA, Ganesh N.; DAVE, Rahul; SANADYA, Jyotsana; SHARMA, Piush; SHARMA, K. K. Various types and management of breast cancer: an overview. **Journal of advanced pharmaceutical technology & research**, v. 1, n. 2, p. 109-126, 2010. Disponível em: https://journals.lww.com/japtr/fulltext/2010/01020/various_types_and_management_of_breast_cancer__an.3.aspx. Acesso em: 31 jul. 2025.

SHERMAN, Mark E.; VIERKANT, Robert A.; WINHAM, Stacey J.; VACHON, Celine M.; CARTER, Jodi M.; PACHECO-SPANN, Laura; et al. Benign breast disease and breast cancer risk in the percutaneous biopsy era. **JAMA surgery**, v. 159, n. 2, p. 193-201, 2024. DOI:10.1001/jamasurg.2023.6382

SIEBERT, Friedrich; HILDEBRANDT, Peter. **Vibrational spectroscopy in life science**. Germany: British Library, 2008. <https://doi.org/10.1002/9783527621347>

SIEBERT, Hans-Christian; ECKERT, Thomas; BHUNIA, Anirban; KLATTE, Nele; MOHRI, Marzieh; SIEBERT, Simone; et al. Blood pH analysis in combination with molecular medical tools in relation to COVID-19 symptoms. **Biomedicines**, v. 11, n. 5, p. 1421, 2023. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11051421>

SIEGEL, Marilyn J.; CHUNG, Ellen. Breast masses in children and adolescents. **Applied Radiology**, v. 46, n. 9, p. 12-17, 2017. Disponível em: https://cdn.agilitycms.com/applied-radiology/PDFs/Issues/AR_09-17_Siegel.pdf. Acesso em: 31 jul. 2025.

SILVA JÚNIOR, Manassés Felix da; SILVA, Matheus Phellipe Santos Felix da; SILVA, Júlia Nicolý Santos Felix da; ARAÚJO, Vanessa Tito Bezerra de; SILVA, Ana Carla Virgínio Rodrigues da; LIMA, Wanessiane Silva Joaquim de. Impacto da dieta cetogênica no tratamento do paciente oncológico: uma revisão da literatura. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 8, n. 9, p. 1075-1087, 2022. <https://doi.org/10.51891/rease.v8i9.6938>

SIMONOVA, Desislava; KARAMANCHEVA, Iliana. Application of Fourier transform infrared spectroscopy for tumor diagnosis. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 27, n. 6, p. 4200-4207, 2013. <https://doi.org/10.5504/BBEQ.2013.0106>

SIMS, John E.; SMITH, Dirk E. The IL-1 family: regulators of immunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 10, n. 2, p. 89-102, 2010. <https://doi.org/10.1038/nri2691>

SINGH, A.; PUROHIT, A; DUNCAN, L. J.; MOKBEL, K.; GHILCHIK, M. W.; REED, M. J. Control of aromatase activity in breast tumours: the role of the immune system. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 61, n. 3-6, p. 185-192, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0960-0760\(97\)80011-8](https://doi.org/10.1016/S0960-0760(97)80011-8)

SINGH, Sandesh Bharat; CHAKRABARTI, Nilay. A clinicopathological study of benign breast diseases in females. **Medical Journal of Dr. DY Patil University**, v. 15, n. 3, p. 346-351, 2022. DOI: 10.4103/mjdrdypu.mjdrdypu_171_20

SIRAVEGNA, Giulia; MARSONI, Silvia; SIENA, Salvatore; BARDELLI, Alberto. Integrating liquid biopsies into the management of cancer. **Nature reviews Clinical oncology**, v. 14, n. 9, p. 531-548, 2017. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.14>

SITNIKOVA, Vera E.; KOTKOVA, Mariia A.; NOSENKO, Tatiana N.; KOTKOVA, Tatiana N.; MARTYNOVA, Daria M.; USPENSKAYA, Mayya V. Breast cancer detection by ATR-FTIR spectroscopy of blood serum and multivariate data-analysis. **Talanta**, v. 214, p. 120857, jul. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120857>

SIU, Albert L. Screening for breast cancer: US Preventive Services Task Force recommendation statement. **Annals of internal medicine**, v. 164, n. 4, p. 279-296, 2016. <https://doi.org/10.7326/M15-2886>

SIZIOPIKOU, Kalliopi P. Ductal carcinoma in situ of the breast: current concepts and future directions. **Archives of pathology & laboratory medicine**, v. 137, n. 4, p. 462-466, 2013. <https://doi.org/10.5858/arpa.2012-0078-RA>

SLAMON, Dennis J.; CLARK, Gary M.; WONG, Steven G.; LEVIN, Wendy J.; ULLRICH, Alex; MCGUIRE, William L. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. **Science**, v. 235, n. 4785, p. 177-182, 1987. DOI: 10.1126/science.3798106

SMIRNE, Carlo; GROSSI, Glenda; PINATO, David J.; BURLONE, Michaela E.; MAURI, Francesco A.; JANUSZEWSKI, Adam; et al. Evaluation of the red cell distribution width as a biomarker of early mortality in hepatocellular carcinoma. **Digestive and liver disease**, v. 47, n. 6, p. 488-494, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2015.03.011>

SOCIEDADE BENEFICENTE ISRAELITA BRASILEIRA ALBERT EINSTEIN. [**In situ X invasivo**]. 2017. Disponível em: <https://www.einstein.br/noticias/noticia/in-situ-invasivo>. Acesso em: 27 nov. 2025

SOUTO, Karlyne Araujo; LIMA, Diego Trabulsi. Doenças benignas da mama. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 24, n. 6, p. e16357-e16357, 2024. <https://doi.org/10.25248/reas.e16357.2024>

SOUZA, Nikolas Mateus Pereira de; MACHADO, Brenda Hunter; PADOIN, Licerio Vicente; PRÁ, Daniel; FAY, André Poisl; CORBELLINI, Valeriano Antonio; et al. Rapid and low-cost liquid biopsy with ATR-FTIR spectroscopy to discriminate the molecular subtypes of breast cancer. **Talanta**, v. 254, p. 123858, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123858>

SPARANO, Joseph A.; GRAY, Robert J.; MAKOWER, Della F.; PRITCHARD, Kathleen I.; ALBAIN, Kathy S.; HAYES, Daniel F.; et al. Adjuvant chemotherapy guided by a 21-gene expression assay in breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 379, n. 2, p. 111-121, 2018. DOI: 10.1056/NEJMoa1804710

SPIELMANN, Nadine; WONG, David T. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. **Oral diseases**, v. 17, n. 4, p. 345-354, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2010.01773.x>

STACHS, Angrit; STUBERT, Johannes; REIMER, Toralf; HARTMANN, Steffi. Benign breast disease in women. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 116, n. 33-34, p. 565, 2019. DOI: 10.3238/arztebl.2019.0565

STOTZ, Michael; SZKANDERA, Joana; STOJAKOVIC, Tatjana; SEIDEL, Julia; SAMONIGG, Hellmut; KORNPRAT, Peter; et al. The lymphocyte to monocyte ratio in peripheral blood represents a novel prognostic marker in patients with pancreatic cancer. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 53, n. 3, p. 499-506, 2015. <https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0447>

STOTZ, M.; PICHLER, M; ABSENGER, G; SZKANDERA, J; ARMINGER, F; SCHABERL-MOSER, R; et al. The preoperative lymphocyte to monocyte ratio predicts clinical outcome in patients with stage III colon cancer. **British journal of cancer**, v. 110, n. 2, p. 435-440, 2014. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.785>

STRECKFUS, C. F.; MAYORGA-WARK, O; ARREOLA, D.; EDWARDS, C; BIGLER, L.; DUBINSKY, W. P. Breast cancer related proteins are present in saliva and are modulated secondary to ductal carcinoma in situ of the breast. **Cancer Investigation**, v. 26, n. 2, p. 159-167, 2008. <https://doi.org/10.1080/07357900701783883>

STUART, Barbara H. Biological Applications. In: (Ed.). **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**: John Wiley & Sons, Ltd, p.137-165. 2005. ISBN 9780470011140. <https://doi.org/10.1002/0470011149.ch7>

SUNG, Hyuna; FERLAY, Jacques; SIEGEL, Rebecca L.; LAVERSANNE, Mathieu; SOERJOMATARAM, Isabelle; JEMAL, Ahmedin; et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>

SWAIN, Sandra M.; BASELGA, José; KIM, Sung-Bae; RO, Jungsil; SEMIGLAZOV, Vladimir; CAMPONE, Mario; et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel in HER2-positive metastatic breast cancer. **New England journal of medicine**, v. 372, n. 8, p. 724-734, 2015. DOI: 10.1056/NEJMoa1413513

SZENTIRMAI, Veronika; WACHA, András; NÉMETH, Csaba; KITKA, Diána; RÁCZ, Anita; HÉBERGER, Károly; et al. Reagent-free total protein quantification of intact extracellular vesicles by attenuated total reflection Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 412, n. 19, p. 4619-4628, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02711-8>

TABÁR, László; VITAK, Bedrich; CHEN, Tony Hsiu-His; YEN, Amy Ming-Fang; COHEN, Anders; TOT, Tibor; et al. Swedish two-county trial: impact of mammographic screening on breast cancer mortality during 3 decades. **Radiology**, v. 260, n. 3, p. 658-663, 2011. <https://doi.org/10.1148/radiol.11110469>

TAKEUCHI, Hideya; ABE, Miyuki; TAKUMI, Yohei; HASHIMOTO, Takafumi; MIYAWAKI, Michiyo; OKAMOTO, Tatsuro; et al. Elevated red cell distribution width to platelet count ratio predicts poor prognosis in patients with breast cancer. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 3033, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40024-8>

TANAKA, Toshio; NARAZAKI, Masashi; KISHIMOTO, Tadamitsu. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 6, n. 10, p. a016295, 2014. DOI: 10.1101/cshperspect.a016295

TANG, Qiuqiong; CHENG, Jie; CAO, Xue; SUROWY, Harald; BURWINKEL, Barbara. Blood-based DNA methylation as biomarker for breast cancer: a systematic review. **Clinical epigenetics**, v. 8, n. 1, p. 115, 2016. <https://doi.org/10.1186/s13148-016-0282-6>

TEH, S. K.; ZHENG, W.; HO, K. Y.; TEH, M.; YEOH, K. G.; HUANG, Z. Near-infrared Raman spectroscopy for early diagnosis and typing of adeno carcinoma in the stomach. *The British journal of surgery*, v. 97, n. 4, p. 550-557, 2010. <https://doi.org/10.1002/bjs.6913>

TEMPLETON, Arnoud J.; MCNAMARA, Mairéad G.; ŠERUGA, Boštjan; VERA-BADILLO, Francisco E.; ANEJA, Priya; OCAÑA, Alberto; et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 106, n. 6, p. dju124, 2014. <https://doi.org/10.1093/jnci/dju124>

THE AMERICAN SOCIETY OF BREAST SURGEONS. [Consensus Guideline on Concordance Assessment of Image-Guided Breast Biopsies and Management of Borderline or High-Risk Lesions]. 2016. Disponível em: <https://bobresource.com/wp-content/uploads/2023/05/ASBS-high-risk-lesions.pdf>. Acesso em: 30 jul. 2025.

THE CANCER GENOME ATLAS NETWORK. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. **Nature**, v. 490, p. 61–70, 2012. <https://doi.org/10.1038/nature11412>

THERNEAU, Terry M. Extending the Cox model. In: **Proceedings of the first Seattle symposium in biostatistics: survival analysis**. New York, NY: Springer US, 1997. p. 51-84. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-6316-3_5

TIAN, P.; ZHANG, W.; ZHAO, H.; LEI, Y.; CUI, L.; ZHANG, Y.; et al. Intraoperative detection of sentinel lymph node metastases in breast carcinoma by Fourier transform infrared spectroscopy. **Journal of British Surgery**, v. 102, n. 11, p. 1372-1379, 2015. <https://doi.org/10.1002/bjs.9882>

TIRONA, Maria Tria. Breast cancer screening update. **American Family Physician**, v. 87, n. 4, p. 274-278, 2013. Disponível em: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2013/0215/p274.html>. Acesso em: 18 jul. 2025.

TREVISAN, Júlio; PARK, Juhyun; ANGELOV, Plamen P.; AHMADZAI, Abdullah A.; GAJJAR, Ketan; SCOTT, Andrew D.; et al. Measuring similarity and improving stability in biomarker identification methods applied to Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy. **J Biophotonics**, v. 7, n. 3-4, p. 254-265, Apr 2014. <https://doi.org/10.1002/jbio.201300190>

VARGAS-OBIETA, Enrique; MARTÍNEZ-ESPINOSA, Juan Carlos; MARTÍNEZ-ZEREGA, Brenda Esmeralda; JAVE-SUÁREZ, Luis Felipe; AGUILAR-LEMARROY, Adriana; GONZÁLEZ-SOLÍS, José Luis. Breast cancer detection based on serum sample surface enhanced Raman spectroscopy. **Lasers in medical science**, v. 31, n. 7, p. 1317-1324, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10103-016-1976-x>

VISSCHER, Daniel W.; NASSAR, Aziza; DEGNIM, Amy C.; FROST, Marlene H.; VIERKANT, Robert A.; FRANK, Ryan D.; et al. Sclerosing adenosis and risk of breast cancer. **Breast cancer research and treatment**, v. 144, n. 1, p. 205-212, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10549-014-2862-5>

VIVAS, W. [Manual prático de hematologia]. 2008. Disponível em: <https://docente.ifsc.edu.br/rosane.aquino/MaterialDidatico/AnalisesClinicas/hemato/Manual%20de%20Hematologia.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2025.

VUONG, Darina; SIMPSON, Peter T.; GREEN, Benjamin; CUMMINGS, Margaret C.; LAKHANI, Sunil R. Molecular classification of breast cancer. **Virchows Archiv**, v. 465, n. 1, p. 1-14, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00428-014-1593-7>

WAKS, Adrienne G.; WINER, Eric P. Breast cancer treatment: a review. **Jama**, v. 321, n. 3, p. 288-300, 2019. DOI:10.1001/jama.2018.19323

WAN, Jonathan C. M.; MASSIE, Charles; GARCIA-CORBACHO, Javier; MOULIERE, Florent; BRENTON, James D.; CALDAS, Carlos; et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. **Nature Reviews Cancer**, v. 17, n. 4, p. 223-238, 2017. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.7>

WANG, Austin; WANG, Chris P.; TU, Michael; WONG, David T. W. Oral biofluid biomarker research: current status and emerging frontiers. **Diagnostics**, v. 6, n. 4, p. 45, 2016. <https://doi.org/10.3390/diagnostics6040045>

WANG, Linbo; JIANG, Zhinong; SUI, Meihua; SHEN, Jianguo; XU, Chaoyang; FAN, Weimin. The potential biomarkers in predicting pathologic response of breast cancer to three different chemotherapy regimens: a case control study. **BMC cancer**, v. 9, n. 1, p. 226, 2009. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-9-226>

WANG, Peng-Fei; SONG, Si-Ying; GUO, Hang; WANG, Ting-Jian; LIU, Ning; YAN, Chang-Xiang. Prognostic role of pretreatment red blood cell distribution width in patients with cancer: A meta-analysis of 49 studies. **Journal of Cancer**, v. 10, n. 18, p. 4305, 2019. DOI: 10.7150/jca.31598

WEBSTER, Joan; BELL-SYER, Sally EM; FOXLEE, Ruth. Skin preparation with alcohol versus alcohol followed by any antiseptic for preventing bacteraemia or contamination of blood for transfusion. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 2, 2015. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007948.pub3>

WHITEMAN, S. C.; YANG, Y.; JONES, J. M.; SPITERI, M. A. FTIR spectroscopic analysis of sputum: preliminary findings on a potential novel diagnostic marker for COPD. **Therapeutic advances in respiratory disease**, v. 2, n. 1, p. 23-31, 2008. <https://doi.org/10.1177/1753465807087972>

WHO - World Health Organization. **WHO Report on Cancer: Setting Priorities, Investing Wisely and Providing Care for All**. Geneva: WHO; 2020. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/who-report-on-cancer-setting-priorities-investing-wisely-and-providing-care-for-all> Acesso em: 22 jul. 2025.

WHO - World Health Organization. **Breast Tumours**. Classification of Tumours Editorial Board. 5th ed. Vol. 2. 2019. Disponível em: <https://publications.iarc.who.int/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/Breast-Tumours-2019> Acesso em: 21 de jul. 2025.

WHO_a - World Health Organization. **[Global cancer burden growing, amidst mounting need for services]**. 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services>. Acesso em: 21 jul. 2025.

WHO_b - World Health Organization. **[Breast cancer]**. 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer#:~:text=Key%20facts,out%20of%20185%20in%202022> Acesso em: 21 jul. 2025

WIERCIGROCH, Ewelina; SZAFRANIEC, Ewelina; CZAMARA, Krzysztof; PACIA, Marta Z.; MAJZNER, Katarzyna; KOCHAN, Kamila; et al. Raman and infrared spectroscopy of carbohydrates: A review. **Spectrochimica acta part a: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 185, p. 317-335, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.05.045>

WILD, Christopher P.; WEIDERPASS, Elisabete; STEWART, Bernard W. **[World cancer report: Cancer research for cancer prevention]**. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK606505/>. Acesso em: 21 jul. 2025.

WOLFF, Antonio C.; SOMERFIELD, Mark R.; DOWSETT, Mitchell; HAMMOND, M. Elizabeth H.; HAYES, Daniel F.; MCSHANE, Lisa M. et al. Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: ASCO–College of American Pathologists Guideline Update. **Journal of Clinical Oncology**, v. 41, n. 22, p. 3867-3872, 2023. <https://doi.org/10.1200/JCO.22.02864>

WOOD, Bayden R.; QUINN, Michael A.; BURDEN, Frank R.; MCNAUGHTON, DONALD. An investigation into FTIR spectroscopy as a biodiagnostic tool for cervical cancer. **Biospectroscopy**, v. 2, n. 3, p. 143-153, 1996. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6343\(1996\)2:3<143::AID-BSPY1>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6343(1996)2:3<143::AID-BSPY1>3.0.CO;2-9)

XIAO, Jie; TAN, Libi; PEI, Yujie; YANG, Ruifang; LI, Jing; FENG, Yong; et al. Association between red cell distribution width and all-cause mortality in patients with breast cancer: A retrospective analysis using MIMIC-IV 2.0. **PLoS ONE**, v. 19, n. 5, 2024. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0302414>

XU, Yunyun; HE, Hongjun; ZANG, Yinshan; YU, Zhe; HU, Huaixia; CUI, Jiajia; et al. Systemic inflammation response index (SIRI) as a novel biomarker in patients with rheumatoid arthritis: a multi-center retrospective study. **Clinical rheumatology**, v. 41, n. 7, p. 1989-2000, 2022. <https://doi.org/10.1007/s10067-022-06122-1>

YAKOB, Maha; FUENTES, Laurel; WANG, Marilene B.; ABEMAYOR, Elliot; WONG, David T. W. Salivary biomarkers for detection of oral squamous cell carcinoma: current state and recent advances. **Current oral health reports**, v. 1, n. 2, p. 133-141, 2014. <https://doi.org/10.1007/s40496-014-0014-y>

YAN, Shuai; KONG, Jian; ZHAO, Zheng-Fei; YAO, HUI. The prognostic importance of red blood cell distribution width for gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. **Translational Cancer Research**, v. 12, n. 7, p. 1816, 2023. DOI: 10.21037/tcr-23-53

YANG, Jing; WEINBERG, Robert A. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. **Developmental cell**, v. 14, n. 6, p. 818-829, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2008.05.009>

YAO, Deshun; WANG, Zhiwu; CAI, Haifeng; LI, Ying; LI, BAOSHENG. Relationship between red cell distribution width and prognosis in patients with breast cancer after operation: a retrospective cohort study. **Bioscience reports**, v. 39, n. 7, p. BSR20190740, 2019. <https://doi.org/10.1042/BSR20190740>

YIN, Jun-Ming; ZHUT, Ke-Peng; GUO, Zhi-Wei; Yi, Wen; HE, Ying; DU, Guo-Cheng. Is red cell distribution width a prognostic factor in patients with breast cancer? A meta-analysis. **Frontiers in Surgery**, v. 10, p. 1000522, 2023. <https://doi.org/10.3389/fsurg.2023.1000522>

YOO, Young-Chul; PARK, Seho; KIM, Hyun-Joo; JUNG, Hyun-Eom; KIM, Ji-Young; KIM, Myoung-Hwa. Preoperative routine laboratory markers for predicting postoperative recurrence and death in patients with breast cancer. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 12, p. 2610, 2021. <https://doi.org/10.3390/jcm10122610>

YOUSEFI, Bahman; SANAIE, Sarvin; GHAMARI, Ali A.; SOLEIMANPOUR, Hassan; KARIMIAN, Ansar; MAHMOODPOOR, Ata. Red cell distribution width as a novel prognostic marker in multiple clinical studies. **Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine**, v. 24, n. 1, p. 49, 2020. DOI: 10.5005/jp-journals-10071-23328

ZELIG, Udi; BARLEV, Eyal; BAR, Omri; GROSS, Itai; FLOMEN, Felix; MORDECHAI, Shaul; et al. Early detection of breast cancer using total biochemical analysis of peripheral blood components: a preliminary study. **BMC Cancer**, v. 15, p. 408, 2015. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1414-7>

ZHANG, Aihua; SUN, Hui; WANG, Xijun. Serum metabolomics as a novel diagnostic approach for disease: a systematic review. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 404, n. 4, p. 1239-1245, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6117-1>

ZHANG, Lei; XIAO, Hua; KARLAN, Scott; ZHOU, Hui; GROSS, Jenny; ELASHOFF, David; et al. Discovery and preclinical validation of salivary transcriptomic and proteomic biomarkers for the non-invasive detection of breast cancer. **PloS one**, v. 5, n. 12, p. e15573, 2010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015573>

ZHANG, Yantao; SUN, Yong; ZHANG, Qiwen. Prognostic value of the systemic immune-inflammation index in patients with breast cancer: a meta-analysis. **Cancer cell international**, v. 20, n. 1, p. 224, 2020. <https://doi.org/10.1186/s12935-020-01308-6>

ZHAO, Weiwei; SHEN, Xuefang; HUA, Qing; YANG, Liu; ZHOU, Ru; ZHOU, Changming; et al. Red cell distribution width—a potential prognostic indicator for colorectal cancer


patients after radical resection in China. **Journal of Gastrointestinal Oncology**, v. 14, n. 4, p. 1746, 2023. <https://doi.org/10.21037/jgo-23-54>

ZHOU, Jiabao; TULOTTA, Claudia; OTTEWELL, Penelope D. IL-1 β in breast cancer bone metastasis. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 24, p. e11, 2022. <https://doi.org/10.1017/erm.2022.4>


ZULUAGA-MORALES, Juan Sebastián; BOLAÑOS-CARMONA María Victoria; CIFUENTES-JIMÉNEZ Carolina Cecilia; ÁLVAREZ-LLORET Pedro. Chemical, microstructural and morphological characterisation of dentine caries simulation by pH-cycling. **Minerals**, v. 12, n. 1, p. 5, 2021. <https://doi.org/10.3390/min12010005>

ANEXOS

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
COM SERES HUMANOS (CEP) - ARTIGO 1

	UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA/MG																	
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP																		
<p>DADOS DA EMENDA</p> <p>Título da Pesquisa: ANÁLISE DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE MATERIAIS BIOLÓGICOS POR MEIO DE TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS PARA DETERMINAÇÃO DE BIOMARCADORES EM MULHERES COM NEOPLASIAS MAMÁRIAS.</p> <p>Pesquisador: Yara Cristina de Paiva Maia</p> <p>Área Temática:</p> <p>Versão: 2</p> <p>CAAE: 31626620.2.0000.5152</p> <p>Instituição Proponente: Faculdade de Medicina</p> <p>Patrocinador Principal: Financiamento Próprio</p> <p>DADOS DO PARECER</p> <p>Número do Parecer: 5.796.210</p> <p>Apresentação do Projeto:</p> <p>Segundo os pesquisadores:</p> <p>O objetivo deste estudo consiste em determinar se a análise dos materiais biológicos (soro, plasma, tecido e saliva) por meio de técnicas espectroscópicas e espectrométricas poderão ser utilizada para discriminar mulheres com neoplasia benigna de mama de neoplasias malignas de acordo com características específicas da assinatura espectral de sua composição molecular. Estes materiais serão enviados para o Laboratório de Nanobiotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia, ficarão sob a responsabilidade dos pesquisadores responsáveis por essa pesquisa e descartados, após realizarmos as análises, ao final do estudo, conforme orienta a resolução CNS 441/11 que regulamenta biorrepositórios. As variáveis quantitativas serão submetidas ao teste Kolmogorov-Smirnov para verificar o grau de aderência e distribuição normal. O tratamento e a análise de dados serão realizadas utilizando os programas GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) e o Statistical Package of Social Science versão 21.0 (SPSS, IBM, Chicago, IL, USA).</p> <p>Estas pacientes serão acompanhadas durante o tratamento no hospital de Clínicas de Uberlândia, sendo divididas em cinco grupos. O grupo "adjuvante" (termo utilizado em oncologia para o grupo de mulheres que serão submetidas às terapias cirúrgicas antes de receber a quimioterapia); o</p>																		
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td colspan="4">Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 234 - Campus Sta. Mônica</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Bairro: Santa Mônica</td> <td colspan="2">CEP: 38.408-144</td> </tr> <tr> <td>UF: MG</td> <td colspan="3">Município: UBERLÂNDIA</td> </tr> <tr> <td>Telefone: (34)3239-4131</td> <td>Fax: (34)3239-4131</td> <td colspan="2">E-mail: cep@propp.ufu.br</td> </tr> </table>			Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 234 - Campus Sta. Mônica				Bairro: Santa Mônica		CEP: 38.408-144		UF: MG	Município: UBERLÂNDIA			Telefone: (34)3239-4131	Fax: (34)3239-4131	E-mail: cep@propp.ufu.br	
Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 234 - Campus Sta. Mônica																		
Bairro: Santa Mônica		CEP: 38.408-144																
UF: MG	Município: UBERLÂNDIA																	
Telefone: (34)3239-4131	Fax: (34)3239-4131	E-mail: cep@propp.ufu.br																
<small>Página 01 de 08</small>																		

**ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
COM SERES HUMANOS (CEP) - ARTIGO 2**

 UFU <small>Comitê de Ética em Pesquisa</small>	UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA/MG	 Plataforma Brasil																
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP																		
<p>DADOS DA EMENDA</p> <p>Título da Pesquisa: A IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS MARCADORES PROGNÓSTICOS EM PACIENTES COM TUMORES SÓLIDOS METASTÁTICOS</p> <p>Pesquisador: Yara Cristina de Paiva Maia</p> <p>Área Temática:</p> <p>Versão: 5</p> <p>CAAE: 08755018.1.0000.5152</p> <p>Instituição Proponente: Faculdade de Medicina</p> <p>Patrocinador Principal: Financiamento Próprio</p> <p>DADOS DO PARECER</p> <p>Número do Parecer: 4.971.857</p> <p>Apresentação do Projeto:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Trata-se de uma emenda do projeto aprovado segundo o Parecer Consubstanciado Número 4.556.238, de 24 de Fevereiro de 2021. - São critérios do estudo: - INCLUSÃO: pacientes com idade maior ou igual a 18 anos atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU) com diagnóstico de câncer com estimativa clínica de sobrevida < 1 ano; presença de metástase e/ou recorrência loco-regional inoperável não passível de cura; admitidos no programa de cuidados paliativos; preenchendo todos os pré-requisitos para o exame da Bioimpedância Elétrica e possuindo capacidade física, verbal e cognitiva para responder os questionários. - EXCLUSÃO: pacientes que desconhecem sobre o diagnóstico de doença avançada; acamados; inconscientes; com neoplasias hematológicas; presença de infecções e lesão em membros superiores e inferiores que impossibilitem a realização da BIA; em uso de antiinflamatórios, sondas alimentares, marcapasso e desfibrilador cardíacos; além da recusa em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. 																		
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td colspan="4">Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "TA", sala 224 - Campus Sta. Mônica</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Bairro: Santa Mônica</td> <td colspan="2">CEP: 38.408-144</td> </tr> <tr> <td colspan="2">UF: MG</td> <td colspan="2">Município: UBERLÂNDIA</td> </tr> <tr> <td>Telefone: (34)3238-4131</td> <td>Fax: (34)3238-4131</td> <td colspan="2">E-mail: cep@propp.ufu.br</td> </tr> </table>			Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "TA", sala 224 - Campus Sta. Mônica				Bairro: Santa Mônica		CEP: 38.408-144		UF: MG		Município: UBERLÂNDIA		Telefone: (34)3238-4131	Fax: (34)3238-4131	E-mail: cep@propp.ufu.br	
Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "TA", sala 224 - Campus Sta. Mônica																		
Bairro: Santa Mônica		CEP: 38.408-144																
UF: MG		Município: UBERLÂNDIA																
Telefone: (34)3238-4131	Fax: (34)3238-4131	E-mail: cep@propp.ufu.br																