

ANÁLISE DOS NÍVEIS SÉRICOS DE QUIMIOCINAS EM MULHERES  
IDOSAS COM CÂNCER DE MAMA

ANALYSIS OF SERUM LEVELS OF CHIMIOCINES IN ELDERLY  
WOMEN WITH BREAST CANCER

Marcela Souza Santoianni<sup>1,2,3</sup>; Vitória Lima Beltrão Vieira de Melo<sup>1,2,3</sup>; Luiz José de Barros Batista, MD<sup>1,2,5</sup>; Kleber das Neves Jatahy<sup>1,2</sup>; Marina Cadena da Matta, PhD<sup>1,2</sup>; Jurema Telles de Oliveira Lima MD, PhD<sup>1,5</sup>; Eduardo Jorge Abrantes da Fonte, MD<sup>1</sup>; Gabriela Lucena de Almeida, MD<sup>1</sup>; Leuridan Cavalcante Torres, PhD<sup>1,2,4</sup>,

<sup>1</sup> Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP), Recife, Brasil

<sup>2</sup> Translational Research Laboratory Prof CA Hart, IMIP, Recife, Brasil

<sup>3</sup> Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS), Recife, Brasil

<sup>4</sup> Hospital de Câncer de Pernambuco, Recife, Brasil

<sup>5</sup> Serviço de Oncogeriatrics do IMIP, Recife, Brasil

**Reconhecimento de apoio ao estudo:** Declaramos que recebemos auxílio financeiro pelo Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), durante o período de 12 meses.

**Conflito de interesse:** Declaramos que não houve nenhum conflito de interesse em nosso estudo.

## RESUMO

**Objetivo:** avaliar os níveis séricos de IP-10, MIG, RANTES, IL-8 e MCP-1 em idosas com câncer de mama. **Métodos:** entre 2016 e 2017, foi realizado uma coorte de pacientes idosas com câncer de mama no serviço de Oncogeriatrics e no Laboratório de Pesquisa Translacional do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP). Foram incluídas 47 mulheres idosas com câncer de mama (CM; 71,2 anos  $\pm$ 8,32), sem tratamento prévio, elegíveis para tratamento cirúrgico e/ou quimioterápico, distribuídas em 4 grupos, de acordo com o subtipo tumoral: 20 luminal A (LA), 11 luminal B (LB), 7 HER2+, 9 triplo negativo (TN). Como grupo controle, foram incluídas 31 idosas (73 anos  $\pm$  8,24) que não possuíam história pregressa ou familiar de câncer oriundos do ambulatório de geriatria do IMIP. A concentração de quimiocinas MIG, IP10, RANTES, IL8 e MCP1 foi detectada por meio do kit de CBA Chemokines (BD Bioscience), conforme instruções do fabricante. Testes de Mann-Whitney e Kruskal -Wallis foram usados para análise de medianas entre dois grupos e três ou mais grupos, respectivamente. Foram considerados estatisticamente significativos valores de  $p < 0,05$ . As análises foram realizadas no programa Graphpad V7.0. **Resultados:** Os níveis séricos de IP10 foram elevados nas pacientes com câncer de mama luminal A e TN quando comparada ao grupo controle ( $p=0.02$  e  $p=0.0004$ , respectivamente). As pacientes com subtipo TN possuem níveis elevados de IP10 quando comparadas ao luminal B ( $p=0.03$ ). Os níveis MPC-1 foram elevados nos subtipos LA, LB e HER2+ quando comparados ao TN e controles ( $p<0.0001$ ). Entre os grupos LA, LB e HER2+, não houve diferença significativa. Também não houve diferença significativa entre TN e controles. Nas análises de IL8, RANTES e MIG, não foi observado diferença significativa entre os grupos. As pacientes que foram à óbito nos primeiros 12 meses a partir do diagnóstico apresentaram níveis elevados de IL8 quando comparadas ao grupo que sobreviveu ( $p=0,009$ ). Nas análises de IP10, RANTES, MIG e MCP1, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. **Conclusão:** Conclui-se que as quimiocinas IP10 e MCP1 podem estar relacionadas a um maior infiltrado de linfócitos e monócitos na neoplasia de mama, sendo a elevação dos seus níveis associados ao subtipo tumoral. A IL8 pode ser um importante fator preditivo de doença avançada e de óbito no câncer de mama em idosa.

**Palavra-chave:** câncer de mama; quimiocinas; idosas.

## **ABSTRACT**

**Aim:** to evaluate the serum levels of IP-10, MIG, RANTES, IL-8 and MCP-1 in elderly women with breast cancer. **Methods:** Between 2016 and 2017, a cohort of elderly patients with breast cancer were performed at the Oncogeriatrics service and at the Translational Research Laboratory of the Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP). We included 47 elderly women with breast cancer (CM, 71.2 years  $\pm$  8.32), without previous treatment, eligible for surgical and / or chemotherapy treatment, distributed in 4 groups, according to the tumor subtype: 20 luminal A (LA) , 11 luminal B (LB), 7 HER2 +, 9 triple negative (TN). As a control group, 31 elderly women (73 years  $\pm$  8.24) were included who had no previous or family history of cancer. Serum levels of MIG, IP10, RANTES, IL8 and MCP1 were detected by the Chemokines CBA kit (BD Bioscience), according to the manufacturer's instructions. Mann-Whitney and Kruskal tests -Wallis were used for analysis of medians between two groups and three or more groups, respectively. Values of  $p < 0.05$  were considered statistically significant. The analyzes were performed in the Graphpad V7.0 program. **Results:** Serum IP10 levels were elevated in patients with luminal A and triple negative breast cancer compared to the control group ( $p = 0.02$  and  $p = 0.0004$ , respectively). Patients with triple negative subtype have high levels of IP10 when compared to luminal B ( $p = 0.03$ ). MPC-1 levels were elevated in the LA, LB and HER2 + subtypes when compared to triple negative and controls ( $p < 0.0001$ ). Among the groups LA, LB and HER2 +, there was no significant difference. There was also no significant difference between TN and controls. In the analyze of IL8, RANTES and MIG, no significant difference was observed between the groups. Patients who died within the first 12 months after diagnosis had elevated levels of IL8 when compared to the surviving group ( $p = 0.009$ ). In the analyze of IP10, RANTES, MIG and MCP1, no significant differences were observed between the groups. **Conclusion:** It is concluded that the chemokines IP10 and MCP1 may be related to the greater infiltration of lymphocytes and monocytes in breast cancer, being the elevation of their levels associated to the tumor subtype. IL8 may be an important predictor of advanced disease and death in breast cancer in the elderly.

**Key words:** breast cancer; chemokines; elderly.

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama (CM) é a neoplasia maligna mais comum entre mulheres no mundo, sendo mais frequente acima dos 50 anos. Trata-se de uma doença muito heterogênea, relacionada às características morfológicas e biológicas do tumor, como a expressão elevada de receptores de estrógeno e de progesterona, como também de HER2, com impacto prognóstico distinto<sup>1</sup>. Dados do *Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) do National Cancer Institute (NCI)*, nos EUA, mostraram que no período de 2010 a 2012, a probabilidade de desenvolver câncer nas mulheres com faixa etária de 50 a 59 anos foi de 6%, de 60 a 69 anos foi de 10% e acima de 70 anos, foi de 26,1%. No CM, que é o tipo de tumor mais incidente nas mulheres, também foi relatado um aumento desse tipo de tumor na população mais idosa. Para esse tipo de neoplasia a probabilidade foi 2,3%, 3,5% e 6,7% nas faixas etárias de 50 a 59 anos, 60 a 69 e acima de 70 anos, respectivamente<sup>1</sup>.

Com a utilização da imuno-histoquímica, foram definidos 4 subtipos que mantêm relação com o perfil genômico tumoral: luminal A, com positividade para receptor hormonal (RH) de estrógeno (RE) e progesterona (RP), sendo tumores de baixo grau e de melhor prognóstico; Luminal B, que também expressa RH, porém com maior grau histológico, prognóstico pior que o luminal A; HER2 apresenta amplificação do gene HER2 com expressão do RE e RP ausente ou diminuída, e o triplo negativo (TN), com expressão ausente dos RH e HER2. Esses, em geral, são de alto grau, têm alta taxa de proliferação e associam-se com curso agressivo e prognóstico desfavorável<sup>2</sup>.

Em seu microambiente tumoral, o câncer de mama é constituído por uma variedade de componentes celulares<sup>3,4</sup>, entre eles estão as células da resposta imune inata (células NK, macrófagos e células dendríticas) e da resposta imune adaptativa, como linfócitos T citotóxicos, que refletem a tentativa do sistema imunológico em promover uma resposta inflamatória antitumoral<sup>3,5</sup>. A migração de linfócitos da resposta Th1 para os locais de atuação é dependente das quimiocinas como MIG e IP-10 e dos seus receptores (CXCR3)

expressos na superfície dessas células. Elevados níveis dessas quimiocinas estão relacionadas a melhores desfechos na resposta antitumoral, ao tratamento oncológico e sobrevida<sup>4,6,7</sup>.

A imunossenescência consiste nas mudanças do sistema imunológico que ocorrem na medida em que o organismo envelhece, sendo expressa por uma função fisiológica reduzida. Esse declínio ocorre nas respostas imunes inata e adaptativa, com repercussões mais expressivas nesta última<sup>8,9,10</sup>. Diante desse processo, destaca-se o potencial papel de neoplasias malignas como causa de imunossenescência associada a tumorigênese, como identificado em estudo com pacientes jovens com câncer comparados com perfil linfocitário de idosos saudáveis<sup>11</sup>. As mudanças no perfil de resposta imune durante o envelhecimento resultam em um aumento do risco de desenvolvimento de câncer<sup>12,13,14</sup>, de eventos adversos precoces em pacientes idosos, incluindo infecções graves, com perda de *performance*, incapacidade, hospitalização, institucionalização e morte<sup>15,16,17,18</sup>.

As quimiocinas possuem um papel importante em diversas doenças, especialmente na progressão dos tumores. IP-10 e MIG são quimiocinas intimamente relacionadas, são membros da CXC, uma família com propriedades pró-inflamatórias e anti-angiogênicas em condições como cicatrização, isquemia e neoplasia, além de papéis isolados que cada uma pode desempenhar<sup>19</sup>. Elas são tidas como a chave entre a inflamação e a angiogênese. Essa atividade pró-inflamatória ocorre da seguinte maneira: quimiotaxia e adesão endotelial de células T, além de quimiotaxia de NK<sup>19,20</sup>. Embora no câncer de mama estudos passados tenham demonstrado a associação da superexpressão do receptor CXCR3 desses ligantes com a diminuição das taxas de sobrevida dos pacientes<sup>21</sup>.

Assim, a IP-10 possui uma associação com a resposta de células T. Há evidência de que as propriedades anti-angiogênicas da IP-10 podem ter valor terapêutico, a partir da observação de que ela inibe o crescimento do tumor, ou seja, existe uma relação inversamente proporcional entre níveis de IP-10 e crescimento tumoral<sup>2</sup>. Sendo assim, as células T contribuem na erradicação tumoral.

Outras quimiocinas também estão envolvidas na resposta imune, como RANTES que possui um papel fundamental no processo inflamatório, recrutamento e ativação de células T, sendo liberada a partir de macrófagos ativados e linfócitos T<sup>22,23,24</sup>. A IL-8 é uma quimiocina da família CXC, a qual é relacionada com angiogênese e inflamação, identificada como um potente ativador de neutrófilos e fator quimiotático<sup>25,26</sup>. Hoje, sabe-se que sua

secreção pode ser feita por diferentes tipos celulares, como neutrófilos, fibroblastos, linfócitos, monócitos, macrófagos, células endoteliais e células epiteliais normais e malignas<sup>26</sup>. Ela possui papel na promoção de tumores autócrinos e/ou parácrinos, a partir da interação com 2 receptores, o CXCR-1 (IL-8RA), com o qual liga-se com maior especificidade, e o CXCR-2 (IL-8RB). Estudos prévios mostram uma associação entre a superexpressão de IL-8 por células cancerígenas e um mau prognóstico de câncer<sup>27,26</sup>. No câncer de mama (CM), estudos prévios demonstraram que a IL-8 é altamente expressa nos subtipos de tumores de mama que não expressam receptores de estrógenos, embora aumente a capacidade invasiva e o potencial metastático das células tumorais de mama com ausência ou não desses receptores, além de ser altamente expressa no CM subtipo HER2+<sup>25</sup>.

A proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) é uma importante quimiocina que acredita-se ser responsável pelo recrutamento de monócitos e linfócitos T para o microambiente tumoral. Também é uma quimiocina associada ao desenvolvimento e progressão do câncer, incluindo o câncer de mama, no qual seus níveis associam-se à invasão celular e a metástases. Ela faz parte da família C-C e sua ação é mediada através da ligação com o receptor CCR2 e está associada em grande parte à proliferação celular, embora também seja um fator significativo de invasão celular no tumor de mama<sup>28</sup>.

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar os níveis séricos de IP10 e MIG, RANTES, IL8 e MCP-1 em mulheres idosas com câncer de mama, uma vez que faltam ferramentas para prever eventos adversos em idosos, principalmente óbito, levando ao uso de subdoses de terapias oncológicas, com perda da chance de cura nessa faixa etária<sup>29,30</sup>.

## **2 MÉTODOS**

### **2.1 Participantes**

Entre 2016 e 2017, foi realizado uma coorte de pacientes idosas com câncer de mama no serviço de Oncogeriatría e no Laboratório de Pesquisa Translacional do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP).

Foram incluídas 47 mulheres idosas com câncer de mama (CM; 71,2 anos  $\pm$ 8,32), sem tratamento prévio, elegíveis para tratamento cirúrgico e/ou quimioterápico, distribuídas

em 4 grupos, de acordo com o subtipo tumoral: 20 luminal A, 11 luminal B, 7 HER2+, 9 triplo negativo (TN). A população estudada foi selecionada a partir de critérios de elegibilidade. Foram excluídas as pacientes com câncer de pele do tipo carcinoma basocelular ou epidermoide não metastáticos, com diagnóstico de neoplasia prévia ou que evoluíram para óbito em até 24 horas após a admissão no estudo. Como grupo controle, foram incluídas 31 idosas (73 anos  $\pm$  8,24) que não possuíam história progressiva ou familiar de câncer oriundos do ambulatório de geriatria do IMIP. Esta pesquisa atende aos requisitos da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde do Brasil referente a pesquisas em seres humanos.

Os pacientes incluídos no estudo foram esclarecidos quanto aos objetivos, protocolo de tratamento, efeitos adversos e a não obrigatoriedade da participação, mediante consentimento informado. Após essa etapa, foi aplicado o protocolo clínico e a coleta de amostras biológicas foi realizada antes do início do tratamento oncológico, e, assim, as pacientes foram acompanhadas por um ano a contar da data de admissão no ambulatório de oncogeriatria.

## **2.2 Análises de quimiocinas por citometria de fluxo**

A concentração de quimiocinas MIG, IP10, RANTES, IL8 e MCP1 foi detectada por meio do kit de *CBA Chemokines* (BD Bioscience), conforme instruções do fabricante. A análise foi realizada por citometria de fluxo (FACSVerse, Becton Dickinson, Sunnyvale, CA). As concentrações de quimiocinas foram expressas em pg/mL.

## **2.3 Análises Estatísticas**

O teste de Shapiro-Wilk foi realizado para avaliar a distribuição das amostras. Testes de Mann-Whitney e Kruskal -Wallis foram usados para análise de medianas entre dois grupos e três ou mais grupos, respectivamente. Foram considerados estatisticamente significativos valores de  $p < 0,05$ . As análises foram realizadas no programa Graphpad V7.0.

## **3 RESULTADOS**

### **3.1 Análise de quimiocinas entre os subtipos de tumores de mama e controles**

Os níveis séricos de IP10 foram elevados nas pacientes com câncer de mama luminal A e triplo negativo (TN) quando comparados ao grupo controle ( $p=0.02$  e  $p=0.0004$ , respectivamente, como mostra a Figura 1). As pacientes com subtipo TN possuem níveis elevados de IP10 quando comparados ao luminal B ( $p=0.03$ ).

Os níveis MPC-1 foram elevados nos subtipos LA, LB e HER2+ quando comparados ao triplo negativo (TN) e controles ( $p<0.0001$ ). Entre os grupos LA, LB e HER2+, não houve diferença significativa. Também não houve diferença significativa entre TN e controles. Nas análises de IL18, RANTES e MIG, não foi observado diferença significativa entre os grupos.

### **3.2 Análises de quimiocinas na sobrevida global nos 12 meses**

As pacientes que foram à óbito nos primeiros 12 meses a partir do diagnóstico apresentaram níveis elevados de IL8 quando comparadas ao grupo que sobreviveu ( $p=0,009$ ). Nas análises de IP10, RANTES, MIG e MCP1, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos (Figura 2).

## **4 DISCUSSÃO**

Neste estudo, foram avaliados os níveis séricos das quimiocinas MIG, IP10, IL8, RANTES, MCP1 no câncer de mama (CM) dos subtipos Luminal A, B, HER2+ e triplo negativo (TN), com o objetivo de verificar se havia associação dessas quimiocinas com os subtipos de CM e com a sobrevida global em 12 meses. Essas quimiocinas são responsáveis pela migração de linfócitos T para o tecido durante o processo inflamatório. Estudos mostraram o aumento dos níveis de quimiocinas MIG e a IP-10 no microambiente tumoral, inclusive no câncer de mama<sup>19,31</sup>. Os nossos resultados mostram aumento nas concentrações séricas de IP10 com maior significância nas pacientes com CM triplo negativo, sendo um dos subtipos de pior prognóstico. Portanto, elevados níveis de IP10 no sangue podem se traduzir em aumento do infiltrado de linfócitos no microambiente tumoral.

Ainda, há demonstrações de que os níveis de IP10 mais elevados reduzem o crescimento tumoral ao mesmo tempo que diminuem o risco de metástases<sup>19,31</sup>. Apesar disso,

nosso estudo não pode relacionar os resultados encontrados com pior prognóstico, pois elevaram-se tanto nos subtipos luminal A, quanto triplo negativo (TN), uma vez que é bem estabelecido a agressividade do TN. Além disso, não relacionamos os níveis de IP10 com óbito uma vez que os dados se mostraram não significantes.

Não houve diferença significativa nos níveis de RANTES entre os grupos, dado que divergiu de outros estudos que apontam uma superexpressão de RANTES, indicando aumento significativo no crescimento do tumor in vivo, ou seja, possui um fenótipo agressivo em células de câncer de mama (CM), com papel importante no subtipo triplo negativo. Mostrou-se que altas taxas de RANTES estão relacionadas com o estágio mais avançado nas pacientes com CM.

A literatura traz a atuação do MCP1 promovendo a angiogênese e aumentando o meio inflamatório. Assim, associada a um pior resultado para os pacientes com estágio avançado da doença, uma vez que a inflamação geralmente é mais permissiva para progressão tumoral e metástases<sup>28</sup>. Dessa maneira, nosso estudo mostra elevadas concentrações de MCP1 nos subtipos LA, LB e HER2 quando comparado ao triplo negativo e aos controles, o que sugere que o perfil desses subtipos tenha um maior infiltrado de monócitos/macrófagos no tumor.

No tumor de mama, existe uma superexpressão de IL-8 quando comparada aos tecidos normais, como demonstram estudos prévios<sup>27</sup>, embora existam poucos estudos clínicos sobre seu papel diante da progressão desse tipo de câncer. Alguns já trazem essa associação com polimorfismos de genes envolvidos na sinalização dessa quimiocina<sup>25</sup>. No presente estudo, não foi observada diferença significativa nas concentrações de IL8 entre as pacientes com câncer de mama e controles.

Em relação aos pacientes que foram à óbito nos primeiros 12 meses do diagnóstico, foram observados níveis elevados de IL-8 nesse grupo. O aumento dos níveis de IL-8 é relatado em diversos tipos de tumores sólidos, como próstata, estômago e pulmão, e a elevação de seus níveis vem sendo mostrada como um fator de pior prognóstico para o câncer, devido a uma associação com a progressão do tumor. Há evidências de que a quimiocina IL8 está associada à inflamação, infecção e outros estados patológicos tais como a carcinogênese. Também é produzida por múltiplos tipos de células, incluindo neutrófilos, monócitos, células endoteliais, fibroblastos, linfócitos, queratinócitos, células epiteliais e células tumorais. IL8 também pode facilitar o crescimento tumoral induzindo a quimiotaxia

dos neutrófilos, promovendo a angiogênese e a formação de metástases pela liberação de metaloproteases (MMPs) e do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)<sup>32,22</sup>.

## **5 CONCLUSÃO**

Conclui-se que as quimiocinas IP10 e MCP1 podem estar relacionadas a um maior infiltrado de linfócitos e monócitos no câncer de mama, sendo a elevação dos seus níveis associados ao subtipo tumoral. A IL8 pode ser um importante fator preditivo de doença avançada e de óbito no câncer de mama em idosa.

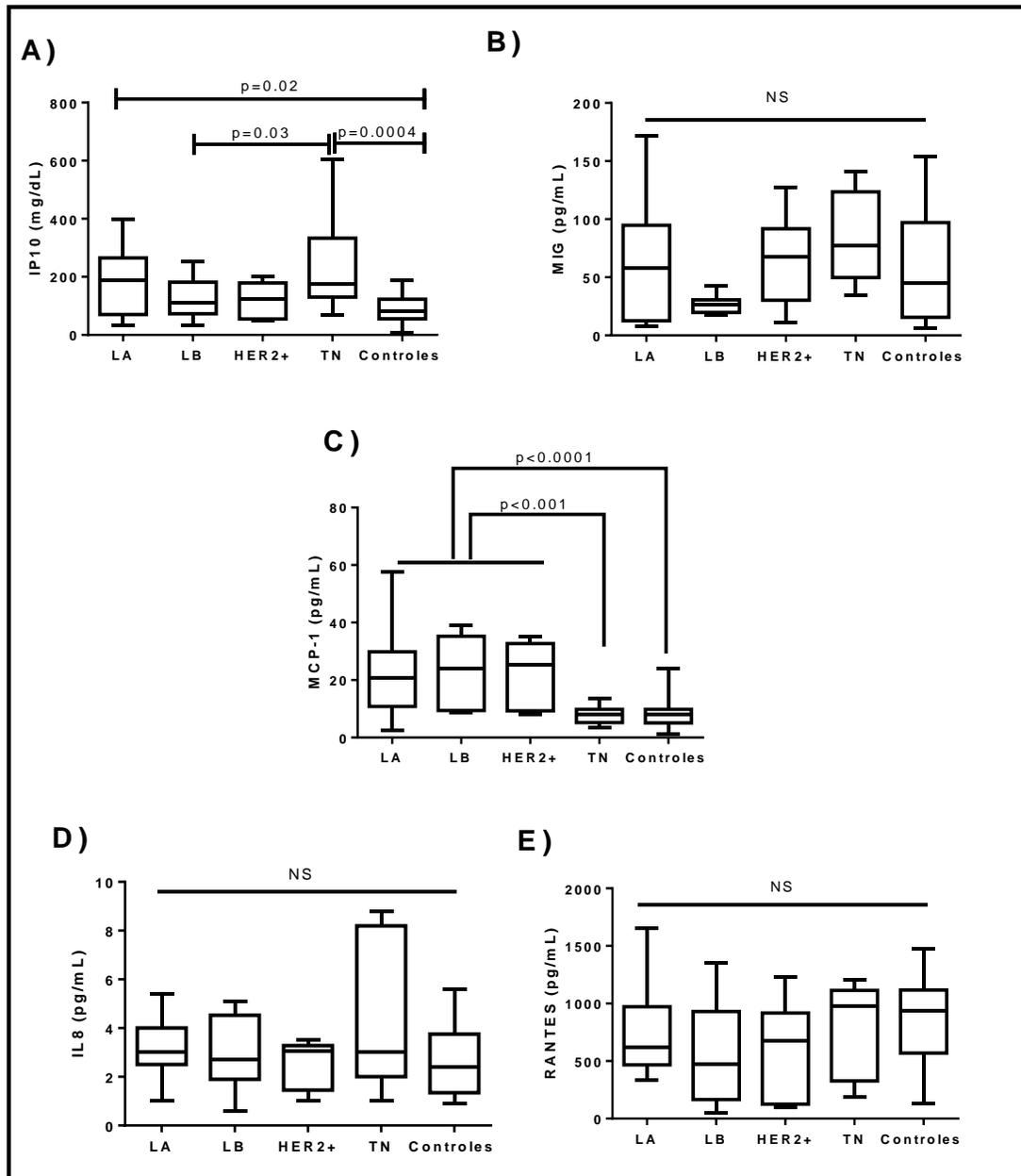
## **REFERÊNCIAS**

1. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 2017;62(0):10–29.
2. Voduc KD, Cheang MCU, Tyldesley S, Gelmon K, Nielsen TO, Kennecke H. Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *J Clin Oncol*. 2010;28(10):1684–91.
3. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(4):298–306.
4. Specht K, Harbeck N, Smida J, Annecke K, Reich U, Naehrig J, et al. Expression profiling identifies genes that predict recurrence of breast cancer after adjuvant CMF-based chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat*. 2009;118(1):45–56.
5. Burkholder B, Huang RY, Burgess R, Luo S, Jones VS, Zhang W, et al. Tumor-induced perturbations of cytokines and immune cell networks. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer* [Internet]. 2014;1845(2):182–201.
6. Agostini M, Janssen K-P, Kim J, Angelo ED, Pizzini S, Zangrando A, et al. An integrative approach for the identification of prognostic and predictive biomarkers in rectal cancer. *Oncotarget*. 2015;6(32):1–14.

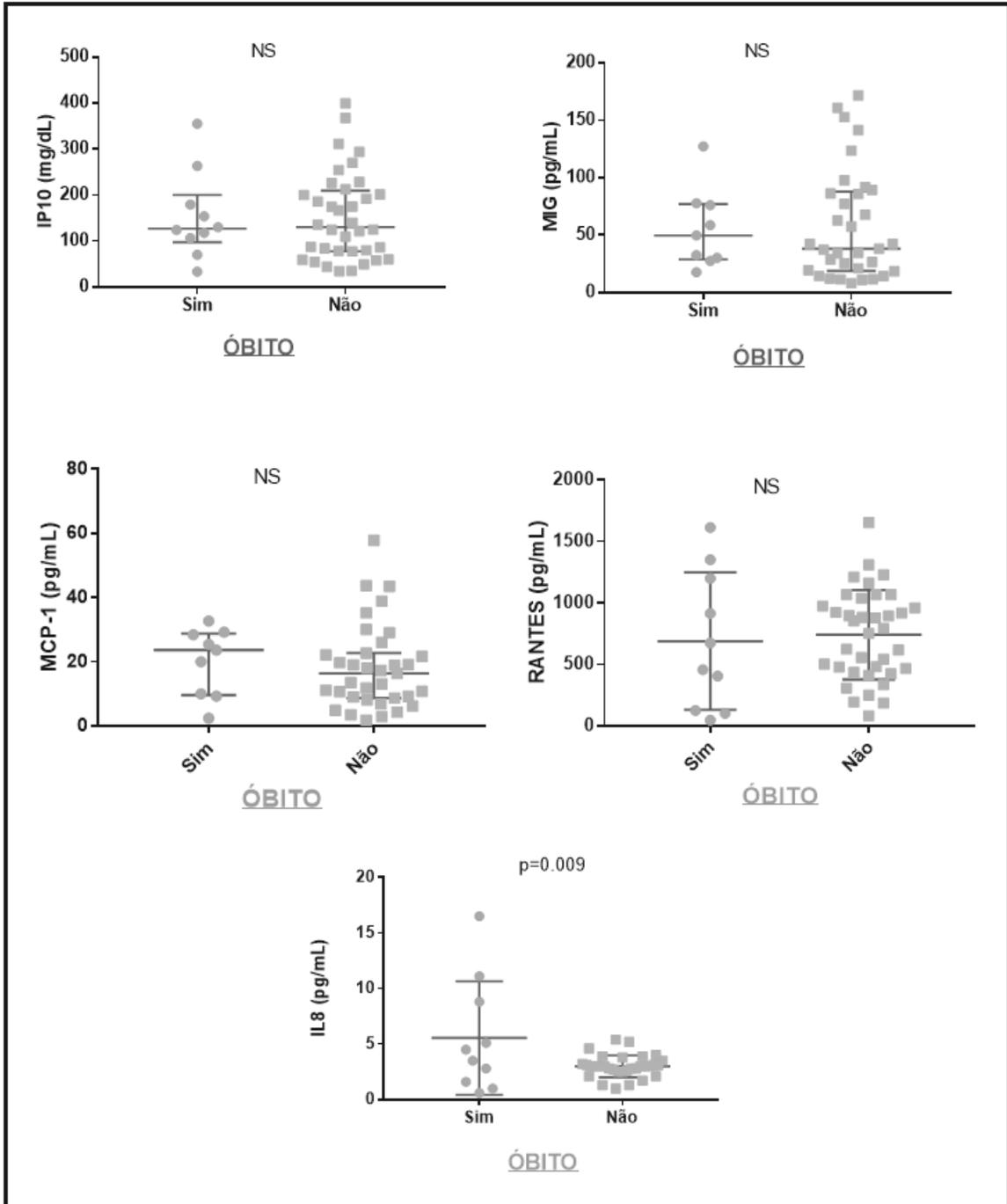
7. Clark-Lewis I, Mattioli I, Gong JH, Loetscher P. Structure-function relationship between the human chemokine receptor CXCR3 and its ligands. *J Biol Chem*. 2003;278(1):289–95.
8. Agarwal S, Busse PJ. Innate and adaptive immunosenescence. *Ann Allergy, Asthma Immunol* [Internet]. 2010;104(3):183–90.
9. Agondi RC, Rizzo L V, Kalil J, Barros MT. Imunossenescência. *Rev Bras Alerg Immunopatológica*. 2012;35(5):169–76
10. Naylor K, Li G, Vallejo AN, Lee W-W, Koetz K, Bryl E, et al. The influence of age on T cell generation and TCR diversity. *J Immunol*. 2005;174(11):7446–52.
11. Poschke I, De Boniface J, Mao Y, Kiessling R. Tumor-induced changes in the phenotype of blood-derived and tumor-associated T cells of early stage breast cancer patients. *Int J Cancer* [Internet]. 2012;131:1611–20.
12. Badalà F, Nouri-mahdavi K, Raouf DA. Effects of aging on T cell function. *NIH public Access*. 2008;144(5):724–32.
13. Frasca D, Blomberg BB. Effects of aging on B cell function. *NIH public Access*. 2010;21(4):425–30
14. Wakatsuki Y, Matsunaga Y, Usui T. Altered Th1 / Th2 commitment in human CD4 1 T cells with ageing. 2000;(January).
15. Collerton J, Martin-Ruiz C, Davies K, Hilkens CM, Isaacs J, Kolenda C, et al. Frailty and the role of inflammation, immunosenescence and cellular ageing in the very old: Cross-sectional findings from the Newcastle 85+ Study. *Mech Ageing Dev* [Internet]. 2012;133(6):456–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mad.2012.05.005>
16. Strindhall J, Nilsson BO, Löfgren S, Ernerudh J, Pawelec G, Johansson B, et al. No Immune Risk Profile among individuals who reach 100 years of age: Findings from the Swedish NONA immune longitudinal study. *Exp Gerontol*. 2007;42(8):753–61.
17. Gibson KL, Wu YC, Barnett Y, Duggan O, Vaughan R, Kondeatis E, et al. B-cell diversity decreases in old age and is correlated with poor health status. *Aging Cell*. 2009;8(1):18–25.
18. Saavedra D, García B, Lorenzo-Luaces P, González A, Popa X, Fuentes KP, et al. Biomarkers related to immunosenescence: relationships with therapy and survival in lung cancer patients. *Cancer Immunol Immunother*. 2016;65(1):37–45.

19. Marco Velasco-Velázquez, Wendy Xolalpa & Richard G Pestell (2014) The potential to target CCL5/CCR5 in breast cancer, *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 18:11, 1265-1275.
20. Francesca Gotsch, Roberto Romero, Lara Friel, Juan Pedro Kusanovic, Jimmy Espinoza, Offer Erez, Nandor Gabor Than, Pooja Mittal, Samuel Edwin, Bo Hyun Yoon, Chong Jai Kim, Shali Mazaki-Tovi, Tinnakorn Chaiworapongsa, and Sonia S. Hassan. CXCL10/IP-10: A missing link between Inflammation and anti-angiogenesis in preeclampsia
21. Khalid A, Wolfram J, Ferrari I, Mu C, Mai J, Yang Z, Zhao Y, Ferrari M, Ma X, Shen H , Recent Advances in Discovering the Role of CCL5 in Metastatic Breast Cancer, *Mini Rev Med Chem*. 2015; 15(13): 1063–1072.
22. Marianna Gallo, Daniela Frezzetti, Cristin Roma, Nicoletta Chicchinelli, Antonio Barbieri, Claudio Arra, Giosuè Scognamiglio, Gerardo Botti, Antonella De Luca, and Nicola Normanno, RANTES and IL-6 cooperate in inducing a more aggressive phenotype in breast cancer cells, 2018 Apr 3; 9(25): 17543–17553.
23. Luboshits G, Shina S, Kaplan O, Engelberg S, Nass D, Lifshitz-Mercer B, Chaitchik S, Keydar I, Ben-Baruch A. Cancer. Elevated expression of the CC chemokine regulated on activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES) in advanced breast carcinoma, *Res*. 1999 Sep 15; 59(18):4681-7
24. Niwa Y, Akamatsu H, Niwa H, Sumi H, Ozaki Y, Abe A. *Clin Cancer Res*. 2001 Feb; 7(2):285-9 Correlation of tissue and plasma RANTES levels with disease course in patients with breast or cervical cancer/.
25. Nataša T, Jelena M. Interleukin-8 in Breast Cancer Progression. *J Interferon Cytokine Res*. 2013 Oct; 33(10): 563–570.
26. Jagdeep K S, Bruno M S, Sacha J H, Gillian F, Robert B C. Recent advances reveal IL-8 signaling as a potential key to targeting breast cancer stem cells. *Breast Cancer Res*. 2013; 15(4): 210.
27. Wen-Xia K, Qiong W, Xiao-Zhong Y, Yao Zhao, Ren Yu, Xiao-Jun T. Interleukin 8 is a biomarker of telomerase inhibition in cancer cells. *BMC Cancer*. 2018; 18: 730.
28. Pranabananda D, Marianna S, Kimberly P, Yanyuan Wu, Jaydutt V. V. MCP-1 is overexpressed in triple-negative breast cancers and drives cancer invasiveness and metastasis. *Breast Cancer Res Treat*. 2018; 170(3): 477–486.

29. Pallis AG, Karampeazis A, Vamvakas L, Vardakis N, Kotsakis A, Bozionelou V, et al. Efficacy and treatment tolerance in older patients with NSCLC: A meta-analysis of five phase III randomized trials conducted by the hellenic oncology research group. *Ann Oncol.* 2011;22(11):2448–55.
30. Hashiguchi Y, Kasai M, Fukuda T, Ichimura T, Yasui T, Sumi T. Chemotherapy-induced neutropenia and febrile neutropenia in patients with gynecologic malignancy. *Anticancer Drugs.* 2015;26(10):1054–60.
31. Jafarzadeh A, Fooladseresht H, Nemati M, Assadollahi Z, Sheikhi A, Ghaderi A, Higher circulating levels of chemokine CXCL10 in patients with breast cancer: Evaluation of the influences of tumor stage and chemokine gene polymorphism, 2016 Mar 11;16(4):545-54
32. Korkaya H, Kim GI, Davis A, Malik F, Henry NL, Ithimakin S, Quraishi AA, Tawakkol N, D'Angelo R, Paulson AK, Chung S, Luther T, Paholak HJ, Liu S, Hassan KA, Zen Q, Clouthier SG, Wicha MS. Activation of an IL6 inflammatory loop mediates trastuzumab resistance in HER2+ breast cancer by expanding the cancer stem cell population. *Mol Cell.* 2012 Aug 24;47(4):570-84).



**Figura 1:** Análise da concentração sérica (pg/mL) de quimiocinas IP10, MIG, MCP1, IL8 e RANTES em idosas com câncer de mama subtipos luminal A (LA, n=20), luminal B (LB, n=11), HER2+ (n=7) e triplo negativo (TN, n=9). Os gráficos foram representados em mediana e interquartil 25-75. Foi realizado o teste de Kruskal- Wallis. Foi considerado significativo  $p < 0.05$ . NS: não significativo.



**Figura 2:** Análise da concentração sérica (pg/mL) de quimiocinas IP10, MIG, MCP1, IL8 e RANTES em idosas com câncer de mama que sobreviveram ou não nos primeiros 12 meses da doença. Os gráficos foram representados em mediana e interquartil 25-75. Foi realizado o teste de Mann Withney. Foi considerado significativo  $p < 0.05$ . NS: não significativo