

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA**  
**APLICADAS**

**ROGÉRIO AGENOR DE ARAÚJO**

**AVALIAÇÃO DE QUIMIOCINAS CIRCULANTES EM PACIENTES COM**  
**CÂNCER DE MAMA**

**O ardiloso Luminal B e as misteriosas quimiocinas**

**Uberlândia**

**2023**

**ROGÉRIO AGENOR DE ARAÚJO**

**AVALIAÇÃO DE QUIMIOCINAS CIRCULANTES EM PACIENTES COM  
CÂNCER DE MAMA**

Projeto de Pesquisa apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicados, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para inscrição no processo de seleção a nível de doutorado (Edital I/2019).

Orientador: Prof. Dr. Marcelo José Barbosa Silva,  
Docente do Instituto de Ciências Biomédicas-UFU

Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Cristina Araújo Lemos da Silva,  
Docente da Patologia Clínica-Famed-UFU

**Uberlândia**

**2023**

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

A663 2023	<p>Araujo, Rogério Agenor de, 1958- AVALIAÇÃO DE QUIMIOCINAS CIRCULANTES EM PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA [recurso eletrônico] : O ardiloso Luminal B e as misteriosas quimiocinas / Rogério Agenor de Araujo. -2023</p> <p>Orientador: Marcelo José Barbosa Silva. Coorientador: Ana Cristina Araújo Lemos da Silva. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Uberlândia Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. Modo de acesso: Internet. Disponível em: <a href="http://doi.org/10.14393/ufu.te.2022.586">http://doi.org/10.14393/ufu.te.2022.586</a> Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p> <p>1. Imunologia. I. Silva, Marcelo José Barbosa, 1976-, (Orient.). II. Silva, Ana Cristina Araújo Lemos da, 1976-, (Coorient.). III Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. IV. Título.</p> <p>CDU: 612.017</p>
--------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:  
Gizele Cristine Nunes do Couto – CRB6/2091  
Nelson Marcos Ferreira – CRB6/3074



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Imunologia e Parasitologia Aplicadas				
Defesa de:	Tese de Doutorado nº 152				
Data:	26/04/2023	Hora de início:	08:00	Hora de encerramento:	11h25min
Matrícula do Discente:	11923IPA006				
Nome do Discente:	Rogério Agenor de Araújo				
Título do Trabalho:	Avaliação de quimiocinas circulantes em pacientes com câncer de mama, O artiloso Luminal B e as misteriosas quimiocinas				
Área de concentração:	Imunologia e Parasitologia Aplicadas				
Linha de pesquisa:	Imunobiologia dos processos alérgicos, autoimunes e tumorais				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Investigação do perfil de promotores relacionados à cancerização das células epiteliais de mama				

No dia 26 de abril de 2023 reuniu-se, por vídeo conferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, assim composta pelo Presidente(a): Marcelo José Barbosa Silva - ICBIM/UFU (Orientador do candidato); Joaquim Teodoro de Araújo Neto - UNIFESP; João Nunes de Matos Neto - UNB; Gesmar Rodrigues Silva Segundo - FAMED/UFU; Tiago Patriarca Mineo- ICBIM/UFU.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Prof. Dr. Marcelo José Barbosa Silva, apresentou a Comissão Examinadora, e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao 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):

#### APROVADO

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 **Tiago Wilson Patriarca Mineo, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/04/2023, às 11:15, 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 **Gesmar Rodrigues Silva Segundo, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/04/2023, às 11:16, 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 **Marcelo José Barbosa Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/04/2023, às 11:16, 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 **João Nunes de Matos Neto, Usuário Externo**, em 09/05/2023, às 11:39, 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 **Joaquim Teodoro de Araujo Neto, Usuário Externo**, em 09/05/2023, às 20:15, 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](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **4369817** e o código CRC **EFA7BD88**.

---

## **Dedicatória**

À Bernadete, Raquel e Breno pela compreensão das minhas ausências e pelos incentivos nas horas difíceis.

## **Agradecimentos**

A todos que contribuíram para a realização desse trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

Às pacientes com câncer de mama que participaram desse estudo.

Ao orientador, Prof. Dr. Marcelo José Barbosa Silva, pelas críticas, incentivos e compartilhamento do conhecimento.

À co-orientadora, Profa. Dra. Ana Cristina Araújo Lemos da Silva, pela agilidade e presteza nas bancadas do laboratório de Patologia.

Aos companheiros e amigos desse formidável time do NuPPPeC (Núcleo de Projetos, Prevenção e Pesquisa do Câncer) do Hospital do Câncer em Uberlândia.

Ao Grupo Luta pela Vida por ter viabilizado a criação do NuPPPeC.

Às voluntárias do Grupo Luta pela Vida que acolheram as pacientes.

***Isaac Newton:***

*“O que sabemos é uma gota; o que ignoramos é um oceano.”*



## RESUMO

**Introdução:** O câncer de mama é uma doença heterogênea. Os principais fatores prognósticos são o estadiamento e os subtipos tumorais conforme a imuno-histoquímica. Estes agrupamentos prognósticos permitem um tratamento mais padronizado, porém ainda não ideal. Há grande variabilidade na resposta terapêutica, como nos tumores Luminais B, que expressam receptores hormonais, mas apresentam resposta errática à endocrinoterapia e à quimioterapia.

O objetivo desse estudo é melhorar a estratificação prognóstica, além do estadiamento e imuno-histoquímica, das pacientes com câncer de mama.

**Metodologia:** Estudo prospectivo com 234 mulheres portadoras de carcinoma ductal infiltrante, agrupadas pelo estadiamento TNM e pela imuno-histoquímica nos subtipos Luminais A e B, HER2 e TN, para análise da sobrevida conforme esses agrupamentos, e suas correlações com o valor da razão de Neutrófilos/Linfócitos pelo hemograma. Uma seleção equitativa de 1/3 dessas pacientes, entre os estadios e subtipos pela imuno-histoquímica, foi analisada para correlações de expressões séricas de quimiocinas. Foram analisadas 7 quimiocinas CC [CCL2 (MCP1), CCL3 (MIP1 $\alpha$ ), CCL4 (MIP1 $\beta$ ), CCL5 (Rantes), CCL11 (Eotaxina), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP3 $\alpha$ )], 6 quimiocinas CXC [CXCL1 (GroAlfa), CXCL5 (ENA78), CCXCL8 (IL-8), CXCL9 (MIG), CXCL10 (IP10), CXCL11 (ITAC)], e 3 citocinas (IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-10). Fez-se também a análise de correlações do infiltrado inflamatório no microambiente tumoral conforme a expressão de linfócitos T CD8, T CD4, T CD4/FOXP3 e do EGFR.

**Resultados:** A sobrevida global foi significativamente dependente dos estadiamentos e dos subtipos tumorais pela imuno-histoquímica, com melhor sobrevida para as mulheres com tumores Luminal A e HER2+, e pior para as Luminal B e TN. Houve correlações da idade com as citocinas IL-6 ( $r = +0,2392$ ;  $p = 0,0416$ ) e IL-10 ( $r = +0,3027$ ;  $p = 0,0092$ ) e com a quimiocina IP10/CXCL10 ( $r = +0,4360$ ;  $p = 0,0079$ ). Encontrou-se correlação inversa do IMC com a quimiocina Rantes/CCL5 ( $r = -0,3098$ ;  $p = 0,0169$ ), e do peso com a Eotaxina/CCL11 ( $r = -0,2575$ ;  $p = 0,0470$ ). As curvas de Kaplan-Meier mostraram que pacientes com câncer de mama Luminal B apresentaram maior risco de morte com o valor da razão de Neutrófilos/Linfócitos  $>2$  (Log-Rank  $p = 0,005$ ). Pela análise do soro as pacientes do subtipo Luminal B que expressaram menores concentrações de ENA78/CXCL5 ( $\leq 254,83$  pg/ml) (Log-Rank  $p = 0,016$ ) e de MIG/CXCL9 ( $\leq 109,28$  pg/ml) (Log-Rank  $p = 0,046$ ), e maior expressão de MIP1 $\beta$ /CCL4 ( $> 34,84$  pg/ml) (Log-Rank  $p = 0,014$ ) apresentaram maior risco de óbito. Na análise do microambiente tumoral as Luminal B com infiltração de Linfócitos T CD4  $> 30\%$  (Log-Rank  $p = 0,027$ ) e Linfócitos T CD4 + T CD8  $> 75\%$  (Log-Rank  $p = 0,033$ ) também tiveram maior risco de óbito.

**Conclusão:** As pacientes com tumores de mama Luminal B podem ser melhor estratificadas pela expressão de Neutrófilos e Linfócitos no hemograma, ou pela análise da expressão de quimiocinas séricas, ou pela infiltração de Linfócitos T no microambiente tumoral, abrindo novas abordagens terapêuticas alvo-específicas, associadas ou não à tradicional quimioterapia e endocrinoterapia.

**Palavras-chave:** Neoplasias da mama; Luminal B; Citocinas; Quimiocinas; Linfócitos T CD4-Positivos; Linfócitos T CD8-Positivos; Linfócitos T FOXP3-positivos; Razão de Neutrófilos/Linfócitos.

## ABSTRACT

**Introduction:** Breast cancer is a heterogeneous disease. The main prognostic factors are staging and tumor subtypes according to immunohistochemistry. These prognostic groupings allow a more standardized treatment, but still not ideal. There is great variability in the therapeutic response, as in Luminal B tumors, which express hormone receptors but show an erratic response to hormone therapy and chemotherapy.

The aim of this study is to improve prognostic stratification, in addition to staging and immunohistochemistry, of patients with breast cancer.

**Methodology:** A prospective study with 234 women with infiltrating ductal carcinoma, grouped by TNM staging and immunohistochemistry into Luminal A and B, HER2, and TN subtypes, to analyze survival according to these groups, and their correlation with the value of the Neutrophil/Lymphocytes by hemogram. An equitable selection of 1/3 of these patients, between stages and subtypes by immunohistochemistry, was analyzed for correlations of serum chemokine expressions. We analyzed 7 CC chemokines [CCL2 (MCP1), CCL3 (MIP1 $\alpha$ ), CCL4 (MIP1 $\beta$ ), CCL5 (Rantes), CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP3 $\alpha$ )], 6 CXC chemokines [CXCL1 (GroAlpha), CXCL5 (ENA78), CXCL8 (IL-8), CXCL9 (MIG), CXCL10 (IP10), CXCL11 (ITAC)], and 3 cytokines (IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-10). In these selected patients, the correlations of the inflammatory infiltrate in the tumor microenvironment were also analyzed according to the expression of T CD8, T CD4, T CD4/FOXP3 lymphocytes, and EGFR.

**Results:** Overall survival was significantly dependent on tumor staging and subtypes by immunohistochemistry, with better survival for women with Luminal A and HER2+ tumors, and worse for Luminal B and TN. There were age correlations with the cytokines IL-6 ( $r = +0.2392$ ;  $p = 0.0416$ ) and IL-10 ( $r = +0.3027$ ;  $p = 0.0092$ ) and with the chemokine IP10/CXCL10 ( $r = +0.4360$ ;  $p = 0.0079$ ). An inverse correlation was found between BMI and the chemokine Rantes/CCL5 ( $r = -0.3098$ ;  $p = 0.0169$ ), and weight with Eotaxin/CCL11 ( $r = -0.2575$ ;  $p = 0.0470$ ). Kaplan-Meier curves showed that patients with Luminal B breast cancer had a higher risk of death with a Neutrophil/Lymphocyte ratio value  $>2$  (Log-Rank  $p = 0.005$ ). By analyzing the serum, patients of the Luminal B subtype who expressed lower concentrations of ENA78/CXCL5 ( $\leq 254.83$  pg/ml) (Log-Rank  $p = 0.016$ ) and of MIG/CXCL9 ( $\leq 109.28$  pg/ml) (Log-Rank  $p = 0.046$ ), and higher expression of MIP1 $\beta$ /CCL4 ( $> 34.84$  pg/ml) (Log-Rank  $p = 0.014$ ) showed a higher risk of death. In the analysis of the tumor microenvironment, Luminal B with infiltration of CD4 T Lymphocytes  $> 30\%$  (Log-Rank  $p = 0.027$ ) and CD4 + T CD8 Lymphocytes  $> 75\%$  (Log-Rank  $p = 0.033$ ) also had a higher risk of death.

**Conclusion:** Patients with Luminal B breast tumors can be better stratified by the expression of Neutrophils and Lymphocytes in the blood count, by the analysis of the expression of serum chemokines, or by the infiltration of T Lymphocytes in the tumor microenvironment, opening new target-specific therapeutic approaches, associated or not with traditional chemotherapy and endocrinotherapy.

**Keywords:** Breast neoplasms; Luminal B; Cytokines; Chemokines; CD4-Positive T-Lymphocytes; CD8-Positive T-Lymphocytes; FOXP3-Positive T-Lymphocytes; Neutrophil-to-lymphocyte ratio.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Organograma de inclusão de pacientes com as análises de subgrupos ...	46
<b>Figura 2.</b>	Curva de sobrevida global por estadiamento das pacientes do estudo .....	49
<b>Figura 3.</b>	Curva de sobrevida global por subtipos tumorais pela imuno-histoquímica .....	50
<b>Figura 4.</b>	Risco de óbito nas pacientes com câncer de mama Luminal B conforme a razão de Neutrófilos/Linfócitos .....	54
<b>Figura 5.</b>	Risco de óbito nas pacientes com câncer de mama Luminal B conforme a expressão de ENA78/CXCL5 .....	65
<b>Figura 6.</b>	Risco de óbito nas pacientes com câncer de mama Luminal B conforme a expressão de MIG/CXCL9 .....	65
<b>Figura 7.</b>	Risco de óbito nas pacientes com câncer de mama Luminal B conforme a expressão de MIP1 $\beta$ /CCL4 .....	66
<b>Figura 8.</b>	Risco de óbito nas pacientes com câncer de mama Luminal B conforme a expressão de Linfócitos T CD4+ .....	68
<b>Figura 9.</b>	Risco de metástases a distância para as pacientes com câncer de mama e expressão de Linfócitos T FOXP3+ .....	69

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Sobrevida global conforme o estadiamento das pacientes com câncer de mama .....	48
<b>Tabela 2.</b>	Sobrevida global conforme o subtipo tumoral pela imuno-histoquímica .....	49
<b>Tabela 3.</b>	Comparação de correlações entre as quimiocinas CC .....	51
<b>Tabela 4.</b>	Comparação de correlações entre as quimiocinas CXC .....	52
<b>Tabela 5.</b>	Correlações das expressões das células sanguíneas periféricas com citocinas e quimiocinas .....	53
<b>Tabela 6.</b>	Mensurações séricas das quimiocinas/citocinas (concentração em pg/ml) conforme os estadiamentos .....	56
<b>Tabela 7.</b>	Análises das características clínicas das pacientes e suas correlações com citocinas, quimiocinas, Leucócitos e características patológicas do tumor .....	61
<b>Tabela 8.</b>	Análise das características patológicas do tumor entre si e suas correlações .....	62
<b>Tabela 9.</b>	Correlações patológicas e dos biomarcadores celulares tumorais com as concentrações séricas das quimiocinas e citocinas .....	64
<b>Tabela 10.</b>	Análise do escore inflamatório (células T CD4, T CD8 e T FOXP3) mensurados pela IH no microambiente tumoral e suas correlações .....	67

## LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS E SÍMBOLOS

%	- Porcentagem
°C	- Graus Celsius
µl	- Microlitro
APC	- Célula apresentadora de antígeno
BSA	- Albumina de soro bovino
CAF	- Fibroblasto associado a cancer
CCL	- Ligante de quimiocina CC
CCR	- Receptor de quimiocina da família CC
CDI	- Carcinoma ductal invasor
CI	- Carcinoma invasor
CEP17	- Centrômetro do cromossomo 17
CTC	- Célula tumoral circulante
CTLA4	- Proteína 4 associada a linfócitos T citotóxico
CXCL	- Ligante de quimiocina CXC
CXCR	- Receptor de quimiocina da família CXC
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
DPP4	- Enzima dipeptidil peptidase 4
EGF	- Fator de crescimento epidérmico
EGFR	- Receptor do fator de crescimento epidérmico
EMT	- Transição epitélio-mesênquima
ENA78	- Epithelial-derived neutrophil-activating protein 78
EOTAXINA	- Eosinophil chemotactic proteins
ERK	- Quinase regulada pela sinalização extracelular
FOXP	- Forkhead box P, regulador transcricional do desenvolvimento de linfócitos
GAG	- Glicosaminoglicanos
GM-CSF	- Fator de crescimento de colônia de granulócitos e Monócitos
GroAlpha	- Growth-regulated oncogene-alpha
H&E	- Coloração hematoxilina-eosina
HC-UFU	- Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia
HER	- Receptor epidermal humano
IFN-γ	- Interferon gama
IGF	- Fator de crescimento insulín-like
IH	- Imuno-histoquímico
IL	- Interleukin
IMC	- Índice de massa corporal
IP10	- Interferon gamma-induced protein 10
ITAC	- Interferon-γ-inducible T-cell chemoattractant
Kg	- Quilograma
Kg/m <sup>2</sup>	- Quilograma por metro quadrado
Ki67	- Proteína nuclear associada a proliferação celular
MCF-7	- Linhagem de célula de câncer de mama da Michigan Cancer Foundation-7
MCP	- Monocyte chemoattractant protein
MDSC	- Célula supressora derivada de mielóide
MHC	- Complexo de histocompatibilidade principal
MIG	- Monokine induced by interferon-G
MIP1α	- Macrophage inflammatory alpha-1 protein
MIP1β	- Macrophage inflammatory beta-1 protein
miRNA	- Micro RNA (ácido ribonucléico)

MI	- Mililitro
mM	- Milimolar
MMP	- Metaloproteinase
MMRp	- Proficiência do reparo de incompatibilidade (Mismatch repair-proficient)
mRNA	- RNA mensageiro (ácido ribonucleico mensageiro)
mTOR	- Proteína alvo da rapamicina em mamíferos
ncRNA	- RNA não codificante
NF-κB	- Fator nuclear Kappa B
NK	- Natural killer
NLR	- Razão de Neutrófilos/Linfócitos
Notch	- Proteína transmembrana de sinalização celular justácrina
NuPPPeC	- Núcleo de Projetos, Prevenção e Pesquisa do Câncer
PBS	- Tampão salina-fosfato
PD-1	- Receptor da morte celular programada 1
PD-L1	- Ligante do receptor da morte programada 1
pg/ml	- Picograma por mililitro
pRC	- Remissão complete patológica
pT	- Estadio patológico do tumor primário
RA	- Receptor de androgênio
RANTES	- Regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted
RE	- Receptor de estrogênio
RH	- Receptor hormonal
RP	- Receptor de progesterone
Rpm	- Rotações por minute
SEONC	- Setor de Oncologia
SG	- Sobrevida global
SNP	- Polimorfismo de nucleotideo único
STAT	- Transdutor de sinal e ativador da transcrição
T FOXP3	- Célula T Forkhead box P3
TAM	- Matriz de amostra tecidual
TARC	- Thymus- and activation-regulated chemokine
T CD4	- Células/Linfócitos T CD4
T CD8	- Células/Linfócitos T CD8
TCLE	- Termo de consentimento livre e esclarecido
TGF-β	- Fator transformante de crescimento beta
Th	- Célula T helper
TIL	- Linfócito infiltrante tumoral
TIMP	- Inibidor tecidual de metaloproteinase
TMA	- Macrofágo associado a tumor
TME	- Microambiente tumoral
TN	- Triplo negative
TNF-α	- Fator de necrose tumoral alfa
TNM	- Tumor, Nódulo, Metástase
Treg	- Célula T reguladora
UFU	- Universidade Federal de Uberlândia
VEGF	- Fator de crescimento endotelial vascular



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>1.1</b> A origem e a diversidade dos tumores de mama .....	18
<b>1.2</b> Aspectos da resposta imunológica no microambiente tumoral .....	20
<b>1.3</b> Quantificação das quimiocinas CC e CXC .....	22
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>33</b>
<b>2.1</b> Avaliação imunológica através da mensuração de quimiocinas, citocinas séricas e células sanguíneas circulantes periféricas .....	33
<b>2.2</b> Avaliação imunológica através do infiltrado inflamatório do microambiente tumoral no câncer de mama .....	33
<b>2.3</b> Avaliação da evolução das pacientes de acordo com a relação de Neutrófilos e Linfócitos, a concentração sérica das quimiocinas e citocinas, e a infiltração imunológica no tecido tumoral .....	33
2.3.1 Acompanhamento da evolução clínica das pacientes conforme os padrões de imuno-histoquímica, de Neutrófilos e Linfócitos, das quimiocinas e citocinas séricas e do perfil imunológico do infiltrado de células T no tumor ..	33
2.3.2 Identificação de grupos de risco, pela interpretação dos dados clínicos, do estadiamento, da imuno-histoquímica, da relação de Neutrófilos e Linfócitos, das quimiocinas e citocinas séricas e do perfil imunológico do infiltrado de células T tumorais e as interferências na sobrevida global e na sobrevida livre de doença dessas pacientes .....	33
<b>3. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>34</b>
<b>4. METODOLOGIA .....</b>	<b>35</b>
<b>4.1</b> Desenho do estudo .....	35
4.1.1 Grupos de estudo – Critérios de inclusão e de exclusão .....	35
4.1.2 Coleta dos dados dos prontuários .....	36

4.1.2.1	Classificação dos subgrupos, conforme a imuno-histoquímica e o estadiamento das pacientes com tumores de mama .....	37
4.1.3	Coleta de sangue para detecção de quimiocinas/citocinas, e hemograma .....	39
4.1.4	Análise das quimiocinas/citocinas séricas .....	40
4.1.4.1	Escores de quantificação sérica de quimiocinas e citocinas (concentração pg/ml) .....	40
4.1.4.1.1	Preparação das alíquotas .....	40
4.1.4.2	Análise das quimiocinas/citocinas séricas pelo método LegendPlex .....	41
4.1.4.2.1	Legendplex Biolegend TM, San Diego – Califórnia .....	41
4.1.4.2.2	Citometria de fluxo .....	42
4.1.5	Análise pela imuno-histoquímica do escore inflamatório de células T CD4, T CD8, Treg FOXP3 e do EGFR no microambiente tumoral .....	42
4.1.5.1	Estudo imuno-histoquímico por matrizes de amostras teciduais para avaliar a infiltração de Linfócitos T CD4, T CD8, Treg FOXP3+ e de EGFR nos tumores da mama .....	42
<b>4.2</b>	<b>Análises estatísticas .....</b>	<b>47</b>
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>48</b>
<b>5.1</b>	<b>Caracterização das pacientes e sobrevidas conforme os subgrupos pela IH e pelo estadiamento .....</b>	<b>48</b>
<b>5.2</b>	<b>Correlações entre as concentrações das quimiocinas .....</b>	<b>50</b>
<b>5.3</b>	<b>Correlações da expressão das células sanguíneas periféricas .....</b>	<b>53</b>
<b>5.4</b>	<b>Análises das características clínicas e patológicas entre si e com as concentrações séricas das quimiocinas, citocinas e células sanguíneas periféricas .....</b>	<b>54</b>
5.4.1	Estadiamento .....	54
5.4.2	Idade .....	60
5.4.3	IMC .....	60

5.4.4	Álcool e Tabaco .....	60
5.4.5	Características patológicas entre si .....	61
5.4.6	Características patológicas com as quimiocinas e citocinas ....	62
5.4.7	Subtipos moleculares pela IH e correlações com quimiocinas e citocinas .....	64
5.5	Análise pela IH do escore inflamatório (células T CD4, T CD8 e Treg FOXP3) no microambiente tumoral e suas correlações .....	66
<b>6.</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>70</b>
6.1	Caracterização das pacientes e sobrevidas conforme os subtipos pela IH e pelo estadiamento .....	70
6.2	Correlações entre as concentrações das quimiocinas .....	71
6.3	Correlações da expressão das células sanguíneas periféricas .....	74
6.4	Análise das características clínicas e patológicas entre si e com as concentrações séricas das quimiocinas, citocinas .....	76
6.4.1	Estadiamento .....	76
6.4.2	Idade .....	78
6.4.3	IMC .....	79
6.4.4	Álcool e Tabaco .....	80
6.5	Correlações das características patológicas entre si .....	82
6.6	Correlações das aracterísticas dos biomarcadores patológicos com as quimiocinas e citocinas .....	83
6.7	Subtipos moleculares pela IH e correlações com as quimiocinas e citocinas .....	86
6.8	Possíveis receptores relacionados à expressão das quimiocinas nas pacientes com tumores Luminal B .....	92
6.9	Análise pela IH do escore inflamatório (células T CD4, T CD8 e Treg FOXP3) no TME e suas correlações .....	94
6.9.1	Particularidades do TME nos tumores Luminais B .....	97
<b>7.</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>101</b>
<b>8.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>102</b>

<b>APÊNDICES .....</b>	<b>138</b>
A: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de Familiares .....	138
B: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do Grupo Controle .....	139
C: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do Grupo Caso .....	140
D: Termo de Responsabilidade de Retirada de Amostra Biológica .....	141
E: Formulário de Pesquisa .....	142
<b>Tabela suplementar 1. Quimiocinas e suas correlações com o câncer .....</b>	<b>144</b>
<b>Tabela suplementar 2. Quimiocinas e suas correlações com doenças não neoplásicas .....</b>	<b>160</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O câncer de mama é bastante heterogêneo, refletindo múltiplos fatores relacionados a sua etiologia. Esses fatores podem ser hereditários ou adquiridos. O câncer de mama familiar representa 20 a 30% dos casos. As principais mutações ocorrem nos genes BRCA1 e BRCA2 e outras mutações dominantes associadas ao alto risco, como nos genes TP53, PTEN e STK11 (YIANNAKOPOULOU, 2014). Mas a grande maioria dos casos de câncer de mama é devido às mutações adquiridas, dependentes do hábito de vida. Quase todos os múltiplos fatores indutores da carcinogênese ampliam a exposição estrogênica (CAVALIERI; ROGAN, 2012), como a precocidade da menopausa, o retardo da menopausa, o uso de contraceptivos orais, a terapia de reposição de estrogênio, a baixa paridade, a redução do período da amamentação, além do alto índice de gordura corporal e o uso de álcool (BARNARD; BOEKE; TAMIMI, 2015).

O câncer de mama não é exclusivo, mas é preponderante, nas mulheres, sendo que 99% dessa neoplasia incide no sexo feminino (ZEINOMAR; BANDERA; QIN, 2021). A incidência dessa neoplasia em mulheres aumenta com a idade, embora aqueles pacientes com idade mais precoce apresentam maior mortalidade (McGUIRE *et al.*, 2015; NASRAZADANI *et al.*, 2022). A idade é um forte preditor de câncer, e outras doenças crônicas, provavelmente pelas modificações epigenéticas do DNA, podendo ser preditor do risco de câncer de mama (KRESOVICH *et al.*, 2019). A somatória de todos esses fatores de risco torna o câncer de mama o mais incidente nas mulheres, responsável por 30% de todos os casos novos, e um dos mais mortais (SIEGEL *et al.*, 2022), sendo fundamental o diagnóstico precoce para melhorar o prognóstico.

O prognóstico do carcinoma de mama é baseado no estadiamento e nos subtipos tumorais conforme o exame de imuno-histoquímica (IH), gerando diversos subgrupos de risco (CARDOSO *et al.*, 2019; CARDOSO *et al.*, 2020; PARKER *et al.*, 2009). Estes agrupamentos são necessários para padronizar o tratamento, embora em cada subgrupo há diversidade de pacientes com diferentes tumores, com nuances imperceptíveis, gerando prognósticos distintos. Inúmeros outros marcadores estão sendo agregados para este detalhamento e individualização, confirmando que o câncer de mama é tão heterogêneo quanto os diferentes perfis biológicos de cada mulher (Da LUZ *et al.*, 2022; HU *et al.*, 2021).

A IH e o grau de diferenciação das células tumorais agregam valor prognóstico ao estadiamento. Construiu-se os agrupamentos de estadios prognósticos que consideram não apenas as dimensões tumorais, mas também as expressões de receptores hormonais (RH), receptor epidermal humano (HER) e o grau histológico (HORTOBAGYI *et al.*, 2017). Mesmo assim não há uniformidade na evolução das pacientes (DeSANTIS *et al.*, 2019). Dentre aquelas com

tumores que expressam RH o subtipo Luminal A apresenta maior sobrevida em todos os estadios, mas o Luminal B, que também manifesta RH, tem evolução errática. Este subtipo tumoral, com pior prognóstico, está mais próximo, em termo de sobrevida, ao tumor triplo negativo (TN), embora seja Luminal, com menos expressão de RH (ADES *et al.*, 2014). Há carência de biomarcadores preditivos e prognósticos no câncer de mama, e em especial entre os Luminais (Dos ANJOS PULTZ *et al.*, 2014).

### 1.1 A origem e a diversidade dos tumores de mama

A diversidade dos tumores da mama é reflexo da diversidade da glândula mamária. Além do tecido de sustentação, ela possui dois tipos de células epiteliais - basais e/ou mioepiteliais que expressam queratinas 5 e 6, e luminais que marcam queratinas 8 e 18. Células-tronco e células do tecido conjuntivo interagem neste ambiente, interferindo na fisiologia da glândula (Van KEYMEULEN *et al.*, 2011). No desenvolvimento do epitélio luminal agem e interagem inúmeros genes (PEROU *et al.*, 2000), e centenas de fatores de transcrição (ASSELIN-LABAT *et al.*, 2007), gerando “retratos moleculares” replicados ou não nos tumores e nas metástases. Estes retratos moleculares são semelhantes, mas não idênticos, tornando o tumor “quase único” para cada paciente (PEROU *et al.*, 2000).

Os cânceres epiteliais de mama originam-se das células troncos tumorais, diferenciando em luminais ou basais (NOLAN, *et al.*, 2023). Sabe-se que as células luminais da mama seriam unipotentes após o nascimento, mas estas células podem expressar marcadores basais simultâneos ao receptor de estrogênio  $\alpha$  (RE $\alpha$ ), como na gravidez, ou na estimulação com hormônios ovarianos (SONG *et al.*, 2019), com a participação de células-tronco indutoras deste fenótipo bipotente na glândula de camundongos (BLAAS *et al.*, 2016). Também na perda da expressão do TP53 as células luminais podem expressar a proteína claudina, com perda da sua identidade tumoral (TAO *et al.*, 2017). Na ativação do oncogene KRAS, as luminais podem induzir cânceres do tipo basal (RÄDLER *et al.*, 2021), com histogênese indefinida (POMMIER *et al.*, 2020), podendo haver concomitância da expressão de células luminais aberrantes em tumores basais na perda da expressão do gene supressor BRCA1 (LIM *et al.*, 2009). Assim, não se pode afirmar com certeza, em alguns casos, qual foi a célula epitelial que gerou aquele tumor.

Vencida a etapa do diagnóstico, da definição histológica, e do grau de diferenciação da neoplasia maligna da mama, é necessário fazer o estadiamento e exame de IH. O estadiamento é o agrupamento das pacientes pelo tamanho do tumor, extensão linfonodal e metástases à distância (TNM) (BURSTEIN, 2020; CARDOSO *et al.*, 2019). A IH mensura a expressão dos receptores proteicos celulares, formando subgrupos, dentro de cada estadio, de tumores

Luminais, HER2+ ou TN, melhorando a individualização dos perfis preditivos e prognósticos (BOSE, 2015) para uma terapia mais precisa (COATES *et al.*, 2015). Ainda não se tem os agrupamentos ideais, com muitas lacunas a serem preenchidas, como nos tumores Luminais B, definido como RH+ e índice de proliferação aumentada (GOLDHIRSCH *et al.*, 2011).

A padronização do Ki67, proteína nuclear associada a proliferação celular (GERDES *et al.*, 1983), melhorou significativamente a classificação dos subtipos Luminais A e B, clareando um pouco o prognóstico entre estes tumores (CIRQUEIRA *et al.*, 2015). O melhor ponto de corte do índice Ki67 para distinguir tumores Luminais B dos Luminais A parece ser em torno de 14% (CHEANG *et al.*, 2009). Confirma-se os Luminais B com menor positividade de RH e de maior expressão do Ki67, e pior sobrevida em comparação aos Luminais A (HONDA *et al.*, 2021), mesmo naquelas pacientes com linfonodo axilar positivo (NITZ *et al.*, 2014). A metodologia de análise do Ki67 na classificação entre Luminais A e B não é unânime (FINSTERBUSCH *et al.*, 2020), sendo a quantitativa, não apenas do Ki67, mas também do RE, RP (receptor de progesterona) e do HER2, uma ferramenta importante no refinamento do prognóstico (ABUBAKAR *et al.*, 2019).

A análise pela IH dos tumores de mama é a mais difundida pela facilidade na execução e pelo baixo custo, permitindo estratificação de riscos, oferecendo tratamentos mais adequados tanto no cenário curativo (POLYCHEMATHERAPY ... 1998) quanto no de doença metastática não curativo (CARDOSO *et al.*, 2020). A análise da expressão de genes, em vez da análise das proteínas, melhora esta estratificação de risco, mas o alto custo ainda é impeditivo para o seu uso rotineiro. São vários os exames de análises genéticas, com detecção de 21 genes (CRONIN *et al.*, 2007), de 50 genes (LÆNKHOLM *et al.*, 2018; RAJ-KUMAR *et al.*, 2019), ou 70 genes (ESSERMAN *et al.*, 2017). Os escores de risco para recorrência apresentam significância estatística e relevância clínica, sendo uma ferramenta poderosa para a predição de resposta a endocrinoterapia (DENKERT *et al.*, 2021; DU *et al.*, 2021), define assinaturas genéticas nos tumores Luminais B de alto risco (GONÇALVES *et al.*, 2021), mas, mais uma vez, pelo custo, não é acessível a todas as mulheres com câncer de mama.

Como percebe-se o câncer de mama é bem heterogêneo. Após o diagnóstico histológico, associado ao grau de diferenciação, é prioritário agrupar as pacientes nos diversos subgrupos de estadiamento e subtipos da IH para definir a melhor opção de tratamento. Mas dentro de cada um destes subgrupos e subtipos deve-se ter ferramentas eficazes para diferenciar e tratar adequadamente cada pessoa com a sua neoplasia, individualmente. Este estudo analisou mulheres com tumores de mama conforme a IH e estadiamento, mas também mensurou alterações inflamatórias sistêmicas e peri-tumorais.

## 1.2 Aspectos da resposta imunológica no microambiente tumoral

Agregando mais diversidade à classificação, estadiamento e análise de IH aos tumores de mama, acrescenta-se as múltiplas vias dos processos inflamatórios neste microambiente tumoral (TME), que pode inibir ou induzir a progressão sustentada do câncer. Estudo em modelos animais com câncer de mama evidenciou que infiltração de células T CD8+ teria efeito antitumoral e a de T CD4+ seria pró-tumoral (HUANG *et al.*, 2015). O TME de mulheres com carcinoma ductal invasor (CI) de mama, em comparação com o tecido mamário daquelas sem câncer, possui significativamente mais células T CD8+ (RIAZI RAD *et al.*, 2015). Mas ressalta-se que o sistema imunológico humano apresenta variabilidade longitudinal, com características individuais (LAKSHMIKANTH *et al.*, 2020) e a senescência imunológica, geralmente progressiva com a idade biológica, complica ainda mais estas análises (DERHOVANESSIAN *et al.*, 2008).

Na falha do sistema imunológico inato e adaptativo em deletar a tumoração incipiente persiste a inflamação crônica, com viés nitidamente pró-tumoral. As células neoplásicas produzem fatores de crescimento indutores de tumores e citocinas facilitadoras da migração de células imunossupressoras como MDSC (célula supressora derivada de mielóide), células T reguladoras (Treg), e macrófagos M2 (TAMs, macrófagos associados a tumor), que por sua vez produzem mais fatores pró-tumorais, como as interleucinas (IL) IL-4 e IL-10, e outros imunossupressores. No TME também podem estar expressas células antitumorais como CTLs (células T citotóxicas), células T auxiliares (Th) Th1, Th17, NK (células *natural killer*), que produzem citocinas antiproliferativas, como interferons- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), IL-2, IL-12 e as quimiocinas (PITT *et al.*, 2016).

As respostas das células Th demonstram, precisamente, a dualidade deste microambiente. As Th1 produzem IFN- $\gamma$  e ativam macrófagos M1 anti-tumorais. As Th2 produzem IL-4 e IgE com indução de migração de eosinófilos, e outros Leucócitos que podem ser pró-tumorais. As Th17, produtoras de IL-17a, IL-17f, IL-22 e IL-21, são diferenciadas de células T *naive* pela ação combinada do TGF- $\beta$  e da IL-6, sendo que aquelas expostas somente ao TGF- $\beta$  expressam FOXP3 (forkhead box P3), que é um fator de transcrição indutor de células Treg, mas as expostas apenas à IL-6 apresentam potente inibição da indução de células Treg FOXP3+ (MIOSSSEC; KORN; KUCHROO, 2009). Há diferentes assinaturas genéticas imunológicas, com indução forte ou fraca de produção de interleucinas, interferons, fatores de necrose tumoral, além dos tipos de infiltrado de células T no tumor, com ampla interferência na sobrevivência de cada paciente (GARG; De RUYSSCHER; AGOSTINIS, 2015).

Portanto, o TME é imensamente diverso, e pode refletir os danos genéticos da célula tumoral. As mutações nos genes supressores BRCA1 e P53, além de induzirem diferenciações



alveolar e ductal aberrantes, também induzem alterações no compartimento imunológico da mama, facilitadores da progressão tumoral (BACH *et al.*, 2021). E os locais preferenciais das metástases podem ser dependentes do tipo de infiltrado inflamatório no TME. Em análise de linhagem de células 4T1, de câncer de mama em camundongos, os infiltrados de Linfócitos T CD3+, células mielóides e Neutrófilos exibem o recrutamento mais pronunciado de metástases para o pulmão e fígado, e menos intensamente para os ossos (TABARIÈS *et al.*, 2015).

Os macrófagos do TME, ou de áreas inflamadas, também interferem nas neoplasias. Eles podem ser migrantes ou residentes do tecido. Os migrantes podem se apresentar como M1, ativados por IFN- $\gamma$ , envolvidos na resposta Th1, com função tumoricida. Ou como macrófagos M2, ou TAMs, expressando baixos níveis de MHC-II, envolvidos na remodelação tecidual e progressão tumoral (ARAS; ZAIDI, 2017), inibindo as respostas imunes antitumorais, pelo aumento na expressão PD-L1/2, IL-10, PGE2 (prostaglandina E2), TGF- $\beta$ , IDO1/2 (DUHAN; SMYTH, 2021). Os macrófagos residentes nos tecidos se renovam localmente, podem apresentar fenótipo M2, acumulando-se próximo das células tumorais na iniciação da carcinogênese, com promoção da EMT (transição epitélio-mesênquima) e potente migração de Treg. Os macrófagos derivados de Monócitos, de vida curta, também se acumulam nas lesões inflamadas, mas com o perfil M1 (CASANOVA-ACEBES *et al.*, 2021).

Em tumores TN, HER2+ e RE+ o maior infiltrado de células T CD8+ tem associação com menor risco de mortalidade específica pelo câncer (ALI *et al.*, 2014). Além disso, quantificar o infiltrado ajuda no entendimento do prognóstico dessa paciente. Em tumores TN, com linfonodos axilares positivos, as mulheres com aumento de 10% do infiltrado intratumoral e estromal, na neoplasia primária, apresentaram redução significativa no risco de recidiva e de morte (LOI *et al.*, 2013) e redução de metástase a distância, em comparação com os casos sem este aumento (ADAMS *et al.*, 2014).

A caracterização do fenótipo do infiltrado de células imunes auxilia a compreensão da diversidade de resposta à terapêutica. Pacientes com câncer de mama PD-1 positivo que são tratadas com inibidores de PD-1, apresentaram células T CD8+ no TME com atividade citotóxica. As células T CD4+ expressaram mais resposta Th1, dependente de IFN- $\gamma$  após o uso de anti-PD-1 (BASSEZ *et al.*, 2021). O TME é de uma diversidade fabulosa, podendo permitir ou não a progressão e disseminação da neoplasia, a depender dos seus componentes celulares e da interação entre eles, formando uma intrincada rede de sinalizações, com a colaboração de dezenas de quimiocinas.

### 1.3 Quantificação das quimiocinas CC e CXC

As quimiocinas e os seus receptores constituem uma superfamília de fatores sinalizadores inflamatórios que modulam proliferação, apoptose, invasão, recrutamento de Leucócitos e angiogênese. Elas são classificadas, independentemente das suas funções, pela posição da cisteína na sua estrutura. As duas principais subclasses são a CXC (17 membros) e a CC (28 membros), além de três moléculas homólogas (CX3CL1, XCL1 e XCL2). Totalizam 48 quimiocinas que se ligam a 20 receptores, sendo 10 de quimiocinas da família CC (CCR), 7 de quimiocinas da família CXC (CXCR) e 3 receptores das homólogas. Há quimiocina que se liga à apenas um, ou à vários receptores, e há receptores que são ligados por uma ou várias quimiocinas (ALI; LAZENNEC, 2007). As múltiplas sinalizações das quimiocinas são dependentes da presença, ou não, dos receptores de complementos C3aR e C5aR nas células T CD8 (ZHANG *et al.*, 2016), ou da normalidade das funções dos proto-oncogenes das vias JAK (Janus Kinase) ou STATs (O'SHEA; HOLLAND; STAUDT, 2013), entre inúmeros outros fatores.

Houve progresso na compreensão das ações das quimiocinas, mas ainda persiste muitas indefinições e contradições na quimiotaxia de células imunológicas para ambientes inflamados e tumorais (FRANZÉN *et al.*, 2019; LIANG *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2017; LIUBOMIRSKI *et al.*, 2019; MA *et al.*, 2018; MARQUES *et al.*, 2018; THOMAS *et al.*, 2019). Neste estudo analisou-se 13 quimiocinas simultaneamente, sendo 7 da família CC e 6 da família CXC. As principais características de cada uma e a suas relações, conforme dados da literatura, estão citados nos próximos parágrafos.

A CCL2 (CC Chemokine Ligand 2) / MCP1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1) está envolvida em doenças inflamatórias e na evolução das neoplasias (YOSHIMURA, 2017). A MCP1/CCL2 é capaz de modular o recrutamento de células Treg (HUANG *et al.*, 2020) e a migração de macrófagos (SAJI *et al.*, 2001), podendo ser classificada como pró-tumoral (VISHNUBALAJI *et al.*, 2019). No entanto em modelos animais de câncer de mama detectou que a MCP1/CCL2 pode ser antitumoral (GRANOT *et al.*, 2011), mas é dependente das suas flutuações periódicas nas concentrações no TME do câncer de mama, mudando o equilíbrio entre células Th1 e Th2 (MANDAL *et al.*, 2018).

Em experimentos *in vitro* e *in vivo* com câncer de mama RH+, a exposição ao estrogênio aumenta a secreção de MCP1/CCL2 na célula tumoral, facilitando a angiogênese e a proliferação do câncer (HAN *et al.*, 2018). Mas a depender de outras proteínas presentes no TME essa quimiocina pode sofrer regulações distintas, sendo secretada pelas células tumorais, por regulação positiva do TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral alfa), ou pelas células do estroma tumoral

por regulação do GM-CSF (YOSHIMURA, 2018). A alta expressão de MCP1/CCL2 no microambiente tumoral aumenta a mobilização de Monócitos da medula óssea e de células cancerosas do tumor da mama para os pulmões, dependente, no entanto, da IL-6 e do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (BONAPACE *et al.*, 2014).

Estudo *in vitro* e *in vivo* demonstrou que o bloqueio da MCP1/CCL2 inibe a migração de precursores de fibroblastos CCR2+, reduzindo o crescimento da neoplasia (ABANGAN Jr. *et al.*, 2010). E a MCP1/CCL2, usada por via nasal em camundongos, aumenta significativamente a migração de células T CD4+, e o crescimento das células tumorais de mama da linhagem 67NR no pulmão, mas o uso *in vitro* desta quimiocina potencializou a morte das células tumorais mediada por Neutrófilos (LAVENDER *et al.*, 2017). Mas em geral, esta quimiocina demonstra capacidade de intensificar a evolução da neoplasia da mama (SORIA; BEN-BARUCH, 2008), e conjuntamente à outras citocinas, transformar o epitélio da mama em células invasoras mesenquimais (LEE, S. *et al.*, 2018). A secreção da MCP1/CCL2 pelas células endoteliais também pode estar relacionada a resistência à quimioterapia (KEKLIKOGLOU *et al.*, 2019).

A CCL3 (CC Chemokine Ligand 3) / MIP1 $\alpha$  (Macrophage Inflammatory alpha-1 Protein) liga nos receptores CCR1 e CCR5 (Da SILVA *et al.*, 2017) que podem ser ativados por outros ligantes (LONGDEN; COOKE; HILL, 2008). Esta quimiocina é reguladora da quimiotaxia de Monócitos para áreas inflamadas (NTANASIS-STATHOPOULOS; FOTIOU; TERPOS, 2020; SCHALLER *et al.*, 2017) e de células T CD8+ para linfonodos (STAVERSKY *et al.*, 2018). Em estudos experimentais a MIP1 $\alpha$ /CCL3 se mostrou antitumoral, com redução da proliferação celular de câncer de mama, ativando as proteínas reparadoras do gene supressor TP53 (MAÑES *et al.*, 2003); e na deleção dessa quimiocina o TME se torna mais pró-tumoral (VISHNUBALAJI *et al.*, 2019), criando um meio imunossupressor, aumentando a população de células T reguladoras CD25+ FOXP3+ (Treg) e reduzindo a população de células Th1 imunoativadas pelo IFN- $\gamma$  (ZUO *et al.*, 2020).

A MIP1 $\alpha$ /CCL3 pode modular, ou ser modulada, por inúmeras proteínas nas vias de sinalização, atuando também como pró-tumoral. A ação dessa quimiocina, *in vivo*, foi estudada por meio de experimentos de xenoenxerto de tumor de mama, e demonstrado o crescimento de células de câncer de mama, através do recrutamento de MDSCs pela MIP3 $\alpha$ /CCL3, com ativação da via PI3K-Akt-mTOR, intensificando e promovendo a migração e invasão das células tumorais (LUO *et al.*, 2020). Com validação *in vitro* e *in vivo*, utilizando também cânceres de mama, identificou-se a MIP1 $\alpha$ /CCL3 como o principal mediador do epitélio neoplásico e dos tecidos periféricos para a indução de outras quimiocinas pró-tumorais como a MCP1/CCL2 (FARMAKI *et al.*, 2017).

A CCL4 (CC chemokine Ligand 4) / MIP1 $\beta$  (Macrophage Inflammatory beta-1 Protein) é ligante do receptor CCR5 (MODI *et al.*, 2006). Há maior expressão, tanto celular como sérico dessa quimiocina, em indivíduos mais idosos (CHENG *et al.*, 2015). Os polimorfismos no gene CCL4 podem induzir diferentes comportamentos nos subtipos Luminais do câncer de mama. Essas pacientes com o genótipo AG apresentaram mais metástases linfonodais, mas naquelas com genótipos AG + GG há maior risco de metástases à distância, com diferentes expressões de MIP1 $\beta$ /CCL4 (HU *et al.*, 2018). Na concomitância da expressão de outras quimiocinas há indução de diferentes subtipos de câncer de mama, sendo que na hiperexpressão de MCP1/CCL2, MIP1 $\beta$ /CCL4 e IL-13 há maior risco de câncer de mama RE+. Mas a hiperexpressão de MIP1 $\beta$ /CCL4 e IL-13 aumenta o risco dos tumores RE negativo (LI, S. *et al.*, 2020), e de MIP1 $\beta$ /CCL4 e IL-8/CXCL8 aumenta o risco de tumores HER2+ (CHAVEY *et al.*, 2007).

Em modelo murino, o bloqueio de CCR5, impedindo a ligação da MIP1 $\beta$ /CCL4, atenua a proliferação e a migração de células metastáticas do câncer de mama, pela indução da apoptose (PERVAIZ *et al.*, 2019). Uma linhagem de células de câncer de mama murino, 4T1.3, com metástases preferenciais para o osso, exibe a expressão aumentada da MIP1 $\beta$ /CCL4, indutora de fibroblastos positivos para CCR5, que suporta a proliferação sustentada do clone 4T1.3 (SASAKI *et al.*, 2016).

A CCL5 (CC Chemokine Ligand 5) / Rantes (Regulated Upon Activation, Normal T-cell Expressed, and Secreted) está relacionada com os efeitos pró-tumorais (KARNOUB *et al.*, 2007), desencadeando intensa migração quimiotática após a ligação aos seus receptores CCR1 ou CCR5 (SALMI; JALKANEN, 2005). Mas pode haver síntese truncada desta quimiocina, com perda da sinalização em Monócitos humanos CCR1+ (ORAVECZ *et al.*, 1997). A forma metilada do Rantes/CCL5 funciona como antagonista para os receptores CCR1 e CCR5, e em modelo murino reduziu o tamanho do tumor (ROBINSON *et al.*, 2003).

As quimiocinas Rantes/CCL5 e MCP1/CCL2 são pouco expressas nas células do ducto epitelial normal da mama, mas altamente expressas nas células do tumor desta glândula (SORIA; BEN-BARUCH, 2008). As metástases pulmonares podem ser intensificadas, em camundongos colonizados com células de câncer de mama 4T1, pela ativação de células mesenquimais induzidas pela Rantes/CCL5 (ZHENG *et al.*, 2020). Essa quimiocina também regula positivamente a angiogênese *in vivo*, inibe a resposta das células T, aumentando o crescimento do carcinoma mamário murino (ADLER *et al.*, 2003). As células-tronco do tecido adiposo humano ativam também a produção de Rantes/CCL5, intensificando a invasão do tumor de mama (PINILLA *et al.*, 2009).

A expressão de Rantes/CCL5 pelas células tumorais de mama intensificam a migração de Monócitos para o local do tumor, contribuindo com a atividade pró-tumoral dessa quimiocina e de outras citocinas pró-inflamatórias que podem facilitar a formação de metástases e a progressão da doença (AZENSHEIN *et al.*, 2002). Em cadelas com tumores de mama a expressão de Rantes/CCL5 foi significativamente maior naquelas com mais metástases e menor sobrevida (ARIYARATHNA *et al.*, 2020). E em mulheres com câncer de mama submetidas a quimioterapia neoadjuvante, com antraciclina, taxano e carboplatina, houve mais remissão completa patológica (pRC) naquelas com maior expressão de Linfócitos infiltrantes tumorais (TILs), sendo que os maiores marcadores preditivos para a pRC foi a maior expressão de PD-L1 e de Rantes/CCL5 (DENKERT *et al.*, 2015).

A CCL11 (CC Chemokine Ligand 11) / Eotaxina (Eosinophil Chemotactic Proteins) e outras duas, a Eotaxina-2/CCL24 e a Eotaxina-3/CCL26, formam um grupo, onde cada uma tem padrões distintos, embora sobrepostos. São secretadas por células estromais como fibroblastos, musculares lisas, endoteliais e epiteliais, e modulam a quimiotaxia de eosinófilos, pela sua ligação ao receptor CCR3, induzindo a secreção de granzima e outras proteínas citotóxicas, ocasionando a morte de células tumorais (SHAH *et al.*, 2020). Dependendo do contexto, os eosinófilos participam ativamente do crescimento tumoral em geral. Se ativados pela Eotaxina-2/CCL22, esses granulócitos induzem a migração de células Treg para o TME, aumento da expressão deIDO e do TGF- $\beta$ 1, que inibe a respostas das células T efectoras (GRISARU-TAL *et al.*, 2020).

A Eotaxina/CCL11 pode influenciar na ocorrência de metástases, como demonstrado em camundongos com alergia experimental induzida pela ovalbumina (OVA) e transplante de células de tumor de mama. Observou-se que o implante das metástases pulmonares foi dependente da expressão de Eotaxina/CCL11 induzida pelo processo alérgico (BEKAERT *et al.*, 2021). Outro estudo com células de câncer de mama co-cultivadas com fibroblastos associados a câncer (CAFs) demonstrou que os fibroblastos produziram mais Eotaxina/CCL11 e CXCL14, colaborando com o crescimento destas células tumorais, induzindo resistência às drogas e propiciando metástases (LIU *et al.*, 2017).

CCL17 (CC Chemokine Ligand 17) / TARC (Thymus- and Activation-Regulated Chemokine) é produzida pelo timo, e também é sintetizada pelas células dendríticas, endoteliais, queratinócitos e fibroblastos. Em queratinócitos humanos a TARC/CCL17 é induzida por TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , e regulada negativamente pela IL-4 e TGF- $\beta$ 1. Esta quimiocina é uma ligante do receptor CCR4, que é predominantemente expresso em Linfócitos Th2, basófilos e células NK (SAEKI;

TAMAKI, 2006). No câncer de mama, a secreção de TARC/CCL17 e MIP3 $\alpha$ /CCL20 apresenta efeito inibitório na progressão das metástases ósseas em tumores com superexpressão de RE $\alpha$ . Esse efeito tem relação com a inibição da produção de TGF- $\beta$ 3 conforme estudo em camundongos. Sem o efeito inibitório do TGF- $\beta$ 3, Linfócitos T CD8+ se tornam mais citotóxicos, com a redução das metástases. Posteriormente, esses achados foram confirmados em pacientes com câncer de mama (BOUCHET *et al.*, 2020).

No entanto, estudo em camundongos demonstrou que o desenvolvimento inicial do tumor de mama pode ter a colaboração da TARC/CCL17. A deleção por hipermetilação do gene supressor de tumor HIC1 em tecido mamário de camundongo, induz a secreção de CXCL14, atraindo CAFs, secretores de TARC/CCL17, que atuam na indução da EMT (WANG, Y. *et al.*, 2018). Pode ocorrer também participação do receptor de prolactina nas atividades das células tumorais de mama. O silenciamento do gene desse receptor reduziu significativamente as metástases com aumento da sobrevida nos grupos experimentais. Este efeito inibitório foi pela redução no recrutamento de células Treg para o tumor pela inibição da sinalização TARC/CCL17, que é quimioatraente dessas células reguladoras, mas provavelmente dependente de prolactina (CHEN, K.-H. *et al.*, 2021).

CCL20 (CC Chemokine Ligand 20) / MIP3 $\alpha$  (Macrophage Inflammatory alfa-3 Protein) é expresso pelo gene no cromossomo 2q35-q36, composto por quatro éxons e três íntrons, codificando duas isoformas, ambas com atividade biológica. Não há produção espontânea destas quimiocinas em Linfócitos T, Monócitos ou Neutrófilos *naive*, mas os Linfócitos T expostos ao vírus da gripe e à IL-2 secretam as duas isoformas, mas se expostos apenas a IL-2 respondem de forma inconsistente (NELSON *et al.*, 2001). A MIP3 $\alpha$ /CCL20 se liga e ativa o receptor CCR6 acoplado à proteína G (GPCR) (WASILKO *et al.*, 2020), recrutando Leucócitos nas infecções bacterianas (FAHY *et al.*, 2004; KITAGAWA *et al.*, 2013).

Esta quimiocina também tem correlações com o câncer de mama. Em cultura de células isoladas de tumores TN, o fenótipo mais agressivo pode ser modulado pelas vias de sinalização IL-6/STAT3, Notch e EGFR (receptor do fator de crescimento epidérmico), sendo dependente da MIP3 $\alpha$ /CCL20 (IBRAHIM *et al.*, 2017). Em pacientes com tumores TN resistentes à quimioterapia neoadjuvante com taxanos há superexpressão MIP3 $\alpha$ /CCL20. Esta quimiocina ativa o fator NF- $\kappa$ B, e esse aumenta a expressão de proteínas de efluxo extracelular do taxano, além de atuar na renovação das células-tronco deste tumor (CHEN *et al.*, 2018), sendo que a alta expressão desta quimiocina, principalmente no subtipo TN, correlacionou-se com a redução de sobrevida (LEE *et al.*, 2017).

CXCL1 (CXC Chemokine Ligand 1) / GroAlfa (Growth-Regulated Oncogene-Alpha) é ligante do receptor CXCR2, e recruta e ativa Neutrófilos para combater patógenos nos tecidos (SAWANT *et al.*, 2016). É hiperexpressa pelos CAFs (EREZ *et al.*, 2010) e células endoteliais humanas, influenciando a angiogênese (MIYAKE *et al.*, 2013). Em vários tumores sólidos em camundongos observou-se que a maior produção de GroAlfa/CXCL1, MCP1/CCL2 e TIMP-1 (inibidor tecidual de metaloproteinase) resulta em mais angiogênese e crescimento tumoral (WONG *et al.*, 2020).

No tumor de mama TN há pior prognóstico na expressão de IL-17a, GroAlfa/CXCL1 e CXCL2, ativadores de células mielóides, com promoção da sobrevivência celular e de metástase (CHIU *et al.*, 2020). Outros subtipos de câncer de mama podem superexpressar GroAlfa/CXCL1 e CXCL2 por ativação transcricional, sendo que na lise do tumor da mama pela quimioterapia há uma reação estromal, com produção de TNF- $\alpha$ , e aumento da expressão de GroAlfa/CXCL1 e CXCL2, pela via NF- $\kappa$ B, nas células residuais, induzindo crescimento e quimiorresistência (ACHARYYA *et al.*, 2012).

O estudo do secretoma da cultura de osteócitos estimulados mecanicamente demonstrou diversos fatores solúveis presentes que têm a propriedade de estimular a proliferação e migração de células tumorais mamárias. A avaliação das citocinas ali presentes comprovou que a GroAlfa/CXCL1 e a CXCL2 são as proteínas mais expressas nesse espaço extracelular (DWIVEDI; KIELY; HOEY, 2021). Em outro estudo também de secretoma, foram investigados 32 fatores solúveis dentre quimiocinas e citocinas expressos pelos TAMs, sendo demonstrado que a GroAlfa/CXCL1 foi a mais secretada, com indução da EMT (WANG, N. *et al.*, 2018).

A GroAlfa/CXCL1 atua concomitantemente a inúmeras outras quimocinas e citocinas. Em camundongos, com tumorigênese mamária espontânea, a ruptura circadiana crônica aumenta o crescimento e disseminação de células cancerosas para o pulmão, com hiporegulação de IFN- $\gamma$ , CXCL13, TNF- $\alpha$  e GroAlfa/CXCL1 e hiper-regulação de CXCL3, CXCL5, IL-10 e IL-1B (HADADI *et al.*, 2020). Em experimentos *in vivo* em ratas, as células Th17 também regulam positivamente a produção de GroAlfa/CXCL1 e diversas outras citocinas, como IL-17a, IL-17f, IL-21, IL-22, IFN- $\gamma$ , GM-CSF e TNF- $\alpha$ , durante a progressão do câncer de mama (MA *et al.*, 2018). A adipocitocina (vinfastina), muito expressa nos tecidos peri-tumorais da mama, está associada a pior prognóstico, promovendo o fenótipo M2 das células monocíticas, pela indução de GroAlfa/CXCL1, aumentando a EMT e a migração das células neoplásicas (WANG, Y.-Y. *et al.*, 2020).

A CXCL5 (CXC Chemokine Ligand 5) / ENA78 (Epithelial-derived Neutrophil-Activating protein 78) é secretada por células da mama, medula óssea, osteoblastos, células endoteliais, fibroblastos, Neutrófilos, Monócitos, macrófagos e Plaquetas, sendo classificada como pró-tumoral. O seu receptor preferencial é o CXCR2, mas pode se ligar ao receptor atípico ACKR1/DARC (*Duffy Antigen Receptor for Chemokines*) que sequestra e degrada o ligante, minimizando sua ação (ROMERO-MORENO *et al.*, 2019). O polimorfismo dessa quimiocina (rs352046, rs425535) a diferencia entre as populações europeia e americana (ZINEH; WELDER; LANGAEE, 2006). A ENA78/CXCL5 intensifica a angiogênese necessária para a recuperação das vilosidades intestinais, regulado pelo EGFR. Em camundongos submetidos a ressecção parcial do intestino a parte remanescente expressa 9 vezes mais ENA78/CXCL5 após a introdução do fator de crescimento epidermal (McMELLEN *et al.*, 2010).

Outros estudos demonstram o potencial carcinogênico desta proteína no câncer de mama. Um método de co-cultura *ex-vivo* de células do câncer de mama em ossos de camundongos identificou a ENA78/CXCL5 como possível indutora da colonização metastática (ROMERO-MORENO *et al.*, 2019), induzindo invasão mesenquimal e migração desta neoplasia (HSU *et al.*, 2013). A análise de seromas na mama residual após a cirurgia do câncer, em comparação com seromas de lesões benignas, demonstrou maior expressão de ENA78/CXCL5 (VALETA-MAGARA *et al.*, 2015). Estudo em animais analisou a formação de estruturas linfonodais, após a iniciação da neoplasia na mama, e mostrou redução na expressão de ENA78/CXCL5 e de CXCL12, sugerindo que na neogênese linfonodal exista redução de ligantes estimuladores à migração celular, na tentativa de minimizar a disseminação (GANTSEV *et al.*, 2013).

A CXCL8 (CXC Chemokine Ligand 8) / IL-8 (Interleukin-8) é expressa em células de mamíferos de maneira semelhante, mas com diferenças individuais (GANGELE *et al.*, 2019). O seu gene está no cromossomo 4q13-q21, com polimorfismos, interferindo em intensidade diferente em diversas doenças, como na *diabetes mellitus* tipo 2 ou na periodontite (SILVA *et al.*, 2020). Ela colabora com a maturação das células intestinais do lactente, apresentando alta concentração no leite materno (MAHESHWARI; CHRISTENSEN; CALHOUN, 2003).

A IL-8/CXCL8 sinaliza pela via PI3K/Akt (fosfatidilinositol 3-quinase/ proteína homóloga 1 do oncogene viral no timoma murino), ou pela ativação da MAPK (proteína quinase ativada por mitógeno) e EGFR, com sinalização de Ras-GTPase (família Ras de sinalização) em células neoplásicas, modulando angiogênese e migração (LIU *et al.*, 2016). A IL-8/CXCL8 é ligante dos receptores CXCR1 e CXCR2, ativando também o NF- $\kappa$ B, mediador de inflamação e angiogênese (GALES *et al.*, 2013). Várias quimiocinas CXC se ligam ao CXCR2, mas apenas a IL-8/CXCL8 e a



CXCL6 se ligam ao CXCR1 (LIU, K. *et al.*, 2020). A IL-8/CXCL8 e outras quimiocinas, modulam migração e proliferação celular em inúmeros cânceres, como o de mama, próstata e leucemia (ALASSAF; MUELLER, 2020).

Em cultura celular a IL-8/CXCL8 foi regulada pelo EGF nas células tumorais da mama, com efeito promotor do estrogênio e progesterona (AZENSHTEIN *et al.*, 2005). A expressão de IL-8/CXCL8 e de GM-CSF, em cultura celular, são significativamente aumentados no câncer de mama HER2+, acelerando a invasão (KIM *et al.*, 2020), sendo que o receptor HER pode ser sinalizado por transativação de CXCR1 e CXCR2 (SINGH *et al.*, 2013). Esta quimiocina é secretada por TAMs, induzindo invasão e EMT no tecido tumoral e nos linfonodos axilares, em animais e mulheres com câncer de mama (NIE *et al.*, 2021). Genes expressos pelos CAFs, em pacientes com câncer de mama, com resposta inflamatória ativada por IFN- $\gamma$  e pela via NF- $\kappa$ B, sinalizam resistência ao tratamento pela hiperexpressão de IL-8/CXCL8, MIG/CXCL9 e IP10/CXCL10 (XU *et al.*, 2020). Em pacientes com câncer de mama TN com maior expressão de CXCR1/2 houve pior sobrevida, e a pRC após a neoadjuvância foi mais alta naquelas com menor expressão de IL-8/CXCL8 (WANG, R.-X. *et al.*, 2020).

A CXCL9 (CXC Chemokine Ligand 9) / MIG (Monokine Induced by Interferon-G) pode inibir a angiogênese, com efeitos antitumorais (ZHANG *et al.*, 2006). No entanto, a expressão de quimiocinas depende da localização da célula secretora. As quimiocinas MIG/CXCL9 e IP10/CXCL10, induzidas pelo IFN- $\alpha$ , são secretadas em regiões distintas do linfonodo (STOLERBARAK; SHULMAN, 2021). Na infecção viral a diferenciação das células T CD8+ efectoras é na periferia dos linfonodos, e na ausência de CXCR3 estas células T ficam no centro do linfonodo, diferenciando em precursores de células de memória (DUCKWORTH *et al.*, 2021). A diferenciação de células Th é otimizada nas regiões perifoliculares ou interfoliculares do linfonodo, dependentes da MIG/CXCL9 estromal e de células dendríticas secretoras de IP10/CXCL10 e outras citocinas (FOWELL; KIM, 2021).

A MIG/CXCL9 e outras 8 proteínas estão, significativamente, associadas à mortalidade por diversas causas, em uma coorte prospectiva de base populacional. Ela é ligante do CXCR3 expresso em Linfócitos T e células NK, atuando desde o recrutamento de células T para placas ateroscleróticas até na modulação do TME (DRAKE *et al.*, 2021). A modulação da expressão da MIG/CXCL9 é quinase dependente de cálcio/calmodulina (CaMKK2), e na deleção desta via há hiperexpressão de genes codificadores de MIG/CXCL9 e de IP10/CXCL10, com atração de células Th1, T CD8+ e NK, antitumorais (RACIOPPI *et al.*, 2019). MIG/CXCL9 também é secretada pelos osteoblastos, contra regulando diretamente a sinalização de VEGF, suprimindo a angiogênese e a osteogênese (HUANG *et al.*, 2016).

Há maior e significativa expressão sérica da MIG/CXCL9 em pacientes com câncer de mama inicial, RE negativo, comparada às voluntárias saudáveis (RUIZ-GARCIA *et al.*, 2010). Nas portadoras de tumor de mama TN a expressão de MIG/CXCL9, e de outras citocinas, foi associado a mais TILs e maior pRC (FILHO *et al.*, 2021). Mas há diferentes expressões de quimiocinas no TME a depender da quimioterapia neoadjuvante, sendo que em pacientes com câncer de mama, inicialmente os TAMs regularam negativamente TARC/CCL17 e CCL18, mas após o tratamento, na análise do tumor residual, os TAMs passaram a expressar mais MIG/CXCL9, IL-6 e TNF- $\alpha$  (LIU *et al.*, 2021). Também a radioterapia é capaz de aumentar a expressão local de múltiplas citocinas, incluindo o IFN- $\gamma$  e suas quimiocinas induzíveis, como MIG/CXCL9, IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11 (HAUTH *et al.*, 2021).

A CXCL10 (CXC Chemokine Ligand 10) / IP10 (Interferon Gamma-Induced Protein 10) é ligante do CXCR3. A superexpressão do CXCR3 nas células cancerosas da mama contribui para a disseminação da neoplasia, mas a IP10/CXCL10 exógena não promove metástase pulmonar nos modelos animais (ZHAO *et al.*, 2021). O IFN- $\gamma$  induz as células estromais mesenquimais (MSCs) a sintetizarem MIG/CXCL9, IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11, ligantes de CXCR3, e o TNF- $\alpha$  promove a síntese de Rantes/CCL5, ligante do CCR5. Mas apenas a combinação de IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  induz expressão forte e coordenada destas quatro quimiocinas com fenótipo Th1 (JIN *et al.*, 2016). A ativação de eosinófilos também pode ser induzida pela IP10/CXCL10, e outras citocinas. Os eosinófilos, cultivados com IL-4 e TNF, produzem TARC/CCL17 e CCL22, atraindo células Th2. A ativação de eosinófilos, por IFN- $\gamma$  mais TNF, leva à produção de MIG/CXCL9, IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11, e atraem células Th1. Eosinófilos Th1 ativados recrutam células T CD8+ para o TME, mas não os eosinófilos Th2, promotores de ambiente imunossupressor e pró-tumoral (CARRETERO *et al.*, 2015).

Em pacientes com câncer de mama a IP10/CXCL10 sérica foi positivamente relacionada ao tamanho do tumor, ao grau tumoral, ao *status* do RE e às metástases em linfonodos axilares, sendo que a hiperexpressão desta quimiocina se correlacionou com menor sobrevida. E em análise de proliferação de células MCF-7 (linhagem de célula de câncer de mama da Michigan Cancer Foundation-7), a IP10/CXCL10 induziu a resistência ao tamoxifeno pelo estímulo ao crescimento tanto de células tumorais dependente de estrogênio quanto aquelas sem expressão deste receptor (WU, X. *et al.*, 2020). A IP10/CXCL10 estimula a migração de células tumorais para os pulmões. Células metastáticas do câncer de mama CXCR3+ nos pulmões secretam IL-1 $\alpha$ / $\beta$  que, por efeito parácrino, induz a produção de IP10/CXCL10 e MIG/CXCL9 pelos fibroblastos, intensificando a migração pulmonar de células tumorais CXCR3+ (PEIN *et al.*, 2020).

Estudo *in vivo* e *in vitro* demonstrou que o eixo IP10/CXCL10/CXCR3 em células 4T1 de câncer de mama induz a ativação da via NF- $\kappa$ B canônica, que estimula a motilidade celular e metástase óssea osteolítica neste tipo de neoplasia (JIN *et al.*, 2017). As células tumorais circulantes (CTCs) tem forte relação com metástases a distância. Sendo assim, CTCs de pacientes com câncer de mama foram isoladas para análise de suas vias de sinalização. Demonstrou-se que IP10/CXCL10 é importante na progressão e metástase, ativando as vias de sinalização relacionadas a survivina,  $\beta$ -catenina, MAPK (Proteína quinase ativada por mitógeno) e MMP1, independente da presença do receptor hormonal nestas CTCs (EJAEIDI *et al.*, 2015). Análise *in vivo* não confirma alguns achados *in vitro* sobre esta quimiocina, como na avaliação por IH, das amostras de tumores de mama RE+ demonstrando que pacientes com maior expressão de IP10/CXCL10 e de CXCR3, têm melhor prognóstico e maior resposta ao tamoxifeno, comparado às pacientes com menor expressão dessa quimiocina e seu receptor (HILBORN *et al.*, 2014).

A CXCL11 (CXC Chemokine Ligand 11) / ITAC (Interferon- $\gamma$ -Inducible T-cell Chemoattractant) é a expressão de genes no cromossomo 14p22, também indutores das quimiocinas MIG/CXCL9, IP10/CXCL10, localizados próximos, e semelhante em humanos e camundongos (MITSUHASHI *et al.*, 2007). A ativação de ITAC/CXCL11, dependente de CXCR3 e de CXCR7, é fundamental para o desenvolvimento de músculos esqueléticos (PUCHERT *et al.*, 2021). ITAC/CXCL11 é secretado por Leucócitos, fibroblastos e células endoteliais com estímulo simultâneo de IFN- $\gamma$  e IL-1 (PROOST *et al.*, 2007). O IFN- $\gamma$  promove a migração de células imunes para o TME pela regulação transcricional de MIG/CXCL9, IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11, e seu receptor CXCR3 em células T, NK, dendríticas, Monócitos e células cancerosas, com inibição da angiogênese e resposta Th1. Mas se a ITAC/CXCL11 se liga ao CXCR7, promove resposta Th2, com angiogênese e o crescimento do tumor (GOCHER; WORKMAN; VIGNALI, 2022).

Análise de células MCF-7 de câncer de mama que expressam CXCR4 e CXCR7, mas não o CXCR3, após a ligação com ITAC/CXCL11 e CXCL12, demonstrou a internalização destes dois receptores, com redução da apoptose e da proliferação celular (HATTERMANN *et al.*, 2014). Mas células cancerosas da mama tratadas com meio condicionado à senescência, como a irradiação, podem aumentar significativamente a proliferação e invasão, com maior expressão de ITAC/CXCL11 (HWANG *et al.*, 2020).

Em outra abordagem metodológica, a ativação do RE $\alpha$  promove a secreção ITAC/CXCL11 nas células cancerosas, que irão ativar o CXCR7, induzindo a EMT (WANG, T. *et al.*, 2021). Em outras situações, a ITAC/CXCL11 é dependente da expressão de miRNAs (miR-1298-5p e miR-205-3p), que atenuam o efeito promotor desta quimiocina nas neoplasias (MA *et al.*, 2021; ZHANG; HU, 2021). No entanto, pacientes com câncer de mama em tratamento neoadjuvante

que hiperexpressam genes relacionados ao complexo proteassoma/ubiquitina, e às citocinas MCP1/CCL2, IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11, apresentaram maior resposta ao tratamento, pela indução expressiva do infiltrado inflamatório no TME (LIU *et al.*, 2018).

Todas quimiocinas analisadas neste estudo também colaboram com a evolução de outros tipos de neoplasias e centenas de outras doenças inflamatórias, não oncológicas, como os processos infecciosos, os distúrbios psiquiátricos e até na modulação da dor. Para consultar estas correlações acesse as Tabelas Suplementares 1 e 2. Estas quimiocinas também são expressas, significativamente, conforme diversas características das pacientes, como a obesidade, o tabagismo ou uso de álcool, ou mesmo em diferentes concentrações conforme a idade do paciente, criando possíveis vieses nas análises de correlações com as neoplasias. Estas características e suas correlações com as quimiocinas serão analisadas na Discussão desse estudo.

## **2. OBJETIVOS**

Avaliação das correlações de Neutrófilos e Linfócitos circulantes, de quimiocinas e citocinas séricas e do infiltrado inflamatório tumoral nas pacientes com câncer de mama antes do tratamento oncológico, e a interface com os parâmetros clínicos e laboratoriais, e com a evolução destas pacientes.

### **2.1. Avaliação imunológica através da mensuração de quimiocinas, citocinas séricas e células sanguíneas circulantes periféricas**

Mensuração da expressão de CC-quimiocinas séricas CCL2 (MCP1), CCL3 (MIP1 $\alpha$ ), CCL4 (MIP1 $\beta$ ), CCL5 (Rantes), CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP3 $\alpha$ ); de CXC-quimiocinas séricas CXCL1 (GroAlfa), CXCL5 (ENA78), CXCL8 (IL-8), CXCL9 (MIG), CXCL10 (IP10) e CXCL11 (ITAC); e das citocinas séricas IL-6, IL-10 e TNF- $\alpha$ ; mensuração da expressão de Neutrófilos, Linfócitos e Monócitos pelo hemograma, em sangue periférico; e as correlações entre si e com os dados clínicos das pacientes.

### **2.2. Avaliação imunológica através do infiltrado inflamatório do microambiente tumoral no câncer de mama**

Quantificação dos Linfócitos T CD4+, Linfócitos T CD8+ e Linfócitos Treg FOXP3+ e do EGFR no microambiente tumoral nas pacientes com câncer de mama.

### **2.3. Avaliação da evolução das pacientes de acordo com a relação de Neutrófilos e Linfócitos, a concentração sérica das quimiocinas e citocinas, e a infiltração imunológica no tecido tumoral**

*2.3.1 Acompanhamento da evolução clínica das pacientes conforme os padrões de imuno-histoquímica, de Neutrófilos e Linfócitos, das quimiocinas e citocinas séricas e do perfil imunológico do infiltrado de células T no tumor*

*2.3.2. Identificação de grupos de risco, pela interpretação dos dados clínicos, do estadiamento, da imuno-histoquímica, da relação de Neutrófilos e Linfócitos, das quimiocinas e citocinas séricas e do perfil imunológico do infiltrado de células T tumorais e as interferências na sobrevida global e na sobrevida livre de doença dessas pacientes.*

### **3. JUSTIFICATIVA**

Entender mais adequadamente as diversidades do câncer de mama conforme as características da imuno-histoquímica e dos fatores imunomodulatórios no microambiente tumoral e sistemicamente; buscar a melhoria na mensuração dos fatores de riscos para recidivas ou óbitos, pelas características imunológicas, com interface com as características imuno-histoquímicas; e minimizar custos na seleção prognóstica nestas pacientes.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Desenho do estudo

O presente estudo teve início após a aprovação pela Comissão de Ética e Pesquisa do Centro Universitário do Triângulo – UNITRI, conforme parecer de número 2.659.765, de 17 de maio de 2018, com a inclusão de 239 pacientes, de um total de 720 mulheres abordadas nos ambulatórios no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU). A rotina de captação de pacientes durou 2 anos consecutivos. Estas pacientes tinham suposto diagnóstico de neoplasia mamária, por lesão suspeita pela mamografia e/ou ultrassonografia das mamas, sendo submetidas à biópsia incisional conforme rotina do Setor de Mastologia / HC-UFU para confirmação diagnóstica.

Em média após 14 dias da biópsia incisional, o laudo histológico, processado pelo Serviço de Patologia do HC-UFU, era liberado. Havendo a confirmação do diagnóstico de carcinoma invasor (CI) sem outra especificação (SOE) esta paciente era convidada a participar do estudo. Outras pacientes, já com resultados dos exames patológicos de CI/SOE de outras instituições, também foram abordadas inicialmente no Setor de Oncologia do HC-UFU (SEONC) para participação neste projeto. O SEONC é o centro de referência para tratamento de câncer para 68 municípios, inclusive Uberlândia, da região do Triângulo Norte de Minas Gerais, pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

Não houve nenhuma interferência no tratamento oncológico. A paciente foi submetida a cirurgia, radioterapia, quimioterapia e/ou endocrinoterapia seguindo o protocolo do SEONC, com toda a orientação dos seus médicos assistentes, após a coleta de sangue para pesquisa das quimiocinas/citocinas e para o hemograma. O diagnóstico, tratamento e seguimento de todas as pacientes foram da responsabilidade das equipes de saúde da Mastologia e do SEONC do HC-UFU, que seguem a normatização do manejo do câncer no Brasil, segundo o CONITEC – Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologia no SUS/Diretrizes Diagnósticos e Terapêuticas do Carcinoma de Mama (BRASIL, 2019).

#### 4.1.1 Grupos de estudo – Critérios de inclusão e de exclusão

As pacientes com biópsia incisional da lesão da mama com confirmação do diagnóstico histológico de CI/SOE foram incluídas neste estudo somente após terem assinado o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndices C e D). Foram incluídas pacientes com

tumores iniciais (estádios I e II), localmente avançados (estádio III) e pacientes com tumores metastáticos (estádio IV), de acordo com o estadiamento da AJCC 8ª edição (HORTOBAGYI *et al.*, 2017), com indicações de tratamento adjuvante, neoadjuvante ou paliativo, respectivamente, conforme orientações do SEONC.

Os critérios de exclusão foram:

- 1) Toda paciente que, a qualquer momento, optasse em deixar de participar do estudo.
- 2) Biópsia excisional, cirurgia conservadora ou radical, quimioterapia, radioterapia e/ou endocrinoterapia anterior a coleta de sangue para pesquisa das quimiocinas/citocinas e hemograma.
- 3) Outros diagnósticos histológicos não classificados como CI/SOE.
- 4) Carcinomas *in situ* e neoplasias benignas da mama.
- 5) História prévia de doenças inflamatórias, como de pele, articulares, pulmonares ou intestinais.

#### 4.1.2 Coleta dos dados dos prontuários

Após a confirmação histológica de CI/SOE da mama a equipe técnica de pesquisa do Núcleo de Projetos, Prevenção e Pesquisa do Câncer/Grupo Luta pela Vida (NuPPPeC/GLPV) foi acionada para abordar a paciente, agendando uma consulta no consultório 2 do SEONC.

Cada paciente foi analisada e para aquelas com o perfil de interesse desta pesquisa foi feito o convite, com explicações e esclarecimentos, para participar do estudo. Após a leitura do TCLE, havendo concordância e compreensão, ele era assinado. Seguiu-se a coleta dos informes clínicos diretamente com a paciente, acrescidos das informações do prontuário. Estes dados foram anotados em uma Ficha Clínica (Apêndice E), e as variáveis foram registradas em computador usando a versão SPSS 21.0.

Todas as informações clínicas e exames laboratoriais do prontuário de cada paciente, e a entrevista pessoal, foram colhidas pela equipe técnica do NuPPPeC, formada por enfermeiros, nutricionista, farmacêutico e psicólogo, sob supervisão do cancerologista responsável pela pesquisa.



#### 4.1.2.1 *Classificação dos subgrupos, conforme a imuno-histoquímica e o estadiamento das pacientes com tumores de mama*

Conforme os dados clínicos e laboratoriais dos prontuários, avaliaram-se a extensão do tumor (estadiamento), além da classificação em subgrupos de acordo com o exame de imuno-histoquímica (IH), seguindo a rotina pré-tratamento do SEONC, de acordo com a literatura vigente (BOSE, 2015). Os exames de IH realizados logo após o laudo anatomo-patológico de CI de mama, por solicitação do médico assistente, foram feitos em dois laboratórios de alta demanda - laboratório de Anatomia Patológica do HC-UFU ou no laboratório de Patologia Bacchi em Botucatu (SP) - possibilitando a classificação destes tumores de mama em Luminal A, Luminal B, HER2+ e TN.

Teve-se acesso a 234 laudos de IH. Cinco pacientes, embora já inclusas no estudo e estadiadas, não retornaram com o resultado da IH. Somente após este exame de classificação dos subtipos tumorais pela IH, para não comprometer/atrasar o tratamento das pacientes, era requisitado o bloco de parafina contendo o espécime tumoral para analisar, como objetivo dessa pesquisa, também pela IH, mas com outros anticorpos, a presença do tipo celular do infiltrado tumoral, além da avaliação de outro receptor celular de interesse do estudo, o EGFR.

A classificação pela IH prévia, obtida nos dois laboratórios de alta demanda citados acima, foi realizado conforme o laudo do exame de IH e não pela anotação do prontuário médico. Fez-se a revisão desta classificação de todas estas 234 pacientes, seguindo a rotina detalhada abaixo, de acordo com a literatura (BOSE, 2015).

Os receptores de estrogênio (RE) e de progesterona (RP) foram classificados em:

- Negativos se apresentassem com escore 0 ou 1+ (escore 0: sem coloração ou negativo; escore 1+: menos que 1% de núcleos corados, ou coloração fraca);
- Positivos se RE e/ou RP apresentassem escores 2+, 3+, 4+ ou 5+ (escore 2+: igual ou maior de 1% a 10% de núcleos corados ou coloração moderada; escore 3+: igual a 11% a 33% dos núcleos corados ou coloração forte; escore 4+: igual a 34% a 66% dos núcleos corados ou coloração forte; e escore 5+: igual a 67% a 100% dos núcleos corados ou coloração forte).

Os receptores HER2 foram classificados como:

- Negativo (HER2-) se apresentassem escore 0 ou 1+ (escore 0: nenhuma coloração; escore 1+: coloração muito fraca em menos de 10% das membranas celulares);

- Duvidoso (HER2++) se apresentassem receptores HER2 escore 2+ (escore 2+ ou ++: coloração fraca a moderada em 10% ou mais das membranas celulares, ou *borderline*). Em todos os tumores HER2++/duvidoso foi realizado o exame denominado FISH, com análise na própria lâmina, do gene HER2 pelo método de hidridização *in situ*, conforme rotina do SEONC. Na detecção de mais de 6 cópias do gene HER2 por núcleo ou pela razão HER2/centrômetro do cromossomo 17 (CEP17) maior que 2,2 o FISH era considerado positivo ou amplificado (HER2+++). O FISH não amplificado ou negativo era determinado por menos que 4 cópias do gene HER2 por núcleo ou pela razão HER2/CEP17 menor que 1,8 sendo considerado como HER2 negativo. E naqueles tumores com presença de 4 a 6 cópias do gene HER2 por núcleo ou pela razão HER2/CEP17 variando de 1,8 a 2,2 o FISH permanecia duvidoso, mas estas pacientes eram tratadas como se fossem HER2 amplificados ou HER2+++ com o anticorpo monoclonal trastuzumabe;
- Positivo (HER2+++) se apresentassem HER2 escore 3+ (escore 3+ ou +++: na presença de coloração forte de toda a membrana celular em mais de 10% das células, ou fortemente positivo).

A mensuração do Ki67, que expressa o índice mitótico da célula tumoral, foi expresso em positivo ou negativo; e os positivos foram expressos em percentagem, agrupados em:

- Ki67 menor de 14%, indicando tumores de baixo índice mitótico, e;
- Ki67 maior ou igual a 14%, indicando tumores de mais alto índice mitótico.

E após esta revisão dos laudos de IH dos dois laboratórios de patologia de alta demanda, utilizando o RE, o RP, o HER2 e o Ki67 as pacientes foram classificadas em:

- Luminais A: compreenderam aquelas pacientes com alta expressão de RE e RP, ou RE positivo e RP negativo, HER2 negativo e Ki67 menor que 14%;
- Luminais B: compreenderam aquelas pacientes com menor expressão de RE e RP, ou RE positivo e RP negativo, ou RE negativo e RP positivo, HER2 negativo e Ki67 igual ou maior que 14%;
- HER2 positivo puro: compreenderam aquelas pacientes HER2+++ ou FISH amplificado e RE e RP negativos (HER+/HR-); ou HER2 positivo híbrido se HER2+++ ou FISH amplificado para HER2, mas com RE e/ou RP positivo (s) (HER+/RH+). Nas análises deste estudo estes dois subgrupos foram considerados como um único subgrupo HER2 positivo, ou simplesmente HER2+;

- Triplo Negativo: compreenderam aquelas pacientes HER2 negativo e RE e RP negativos.

A expressão do p53 e do EGFR não estão incorporadas na rotina da classificação dos subtipos tumorais pela IH. Mas fez-se a inclusão destes dois biomarcadores para posterior análise nos diversos subtipos tumorais. A mensuração do p53, proteína mutante do gene supressor de tumor TP53 na célula tumoral, foi expressa em positivo ou negativo e foi realizado de rotina pelos dois laboratórios de alta demanda que processaram a primeira IH. A análise da expressão do EGFR foi realizada posteriormente, de forma concomitante com a IH para mensuração das células T CD4, T CD8 e T FOXP3 (célula T Forkhead box P3) no tumor. Tanto o EGFR quanto os Linfócitos T foram quantificados como positivo ou negativo, e naqueles positivos foi mensurada a percentagem de positividade. Esta percentagem de positividade foi avaliada por duas patologistas, e na discordância desse percentual havia discussão do caso até o consenso comum.

#### *4.1.3 Coleta de sangue para detecção de quimiocinas/citocinas e hemograma*

Após o TCLE assinado, e anotação dos informes clínicos e laboratoriais, foi coletado 4ml de sangue em veia periférica, por enfermeira habilitada do quadro de funcionários do NuPPPeC, antes de qualquer tratamento, utilizando agulha própria de venóclise. Para a análise das quimiocinas o sangue foi coletado em tubos BD Vacutainer contendo o anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). Este material foi enviado, em caixas de isopor, ao Laboratório de Imunologia da UFU para armazenamento e refrigeração para posterior análise dos biomarcadores imunológicos de interesse deste estudo.

Inicialmente 100 µL do sangue de cada amostra foi lavado com PBS (tampão Salina-Fosfato) a 0,3% BSA (albumina de soro bovino) e bloqueado com PBS a 5% BSA por 10 minutos, identificadas e reservadas em refrigeração em ultra-freezer a -80°C para posterior análise conjunta das quimiocinas de 1/3 das pacientes. Selecionou-se, baseado em tabela de contingência 81 pacientes representando, proporcionalmente, as 234 pacientes do estudo, nos respectivos subgrupos prognósticos, conforme a IH e o estadiamento. Esta seleção de 1/3 das pacientes para análise de quimiocinas foi devido a restrição orçamentária para execução do estudo.

Para análise do hemograma foi realizado coleta de sangue em veia periférica concomitantemente a coleta para análise das quimiocinas, minimizando o desconforto de duas picadas. Após a coleta do sangue esse material foi encaminhado ao laboratório central do HC-UFU, na rotina do SEONC, seguindo os procedimentos usuais do pré-tratamento das pacientes

com câncer. Os tópicos de interesse do hemograma foram os Leucócitos (Bastonetes, Segmentados, Neutrófilos, Monócitos, Linfócitos).

O sangue para o primeiro hemograma também foi colhido logo após a confirmação do CI de mama, antes de qualquer procedimento local ou sistêmico. Um segundo e terceiro hemogramas foram realizados aos 6 e 12 meses após o tratamento local ou sistêmico. Naquelas pacientes em tratamento com endocrinoterapia, usado rotineiramente por um período de 5 a 10 anos, as coletas do segundo e terceiro hemograma também foram aos 6 e 12 meses após o tratamento local (cirurgia e/ou radioterapia) ou a quimioterapia sistêmica, se usada, mas em uso de antiestrogênico ou inibidor de aromatase. Conseguiu-se coletar os três hemogramas de 178 pacientes. Não houve coletas espaçadas e consecutivas do hemograma de todas as pacientes devido aos óbitos, ou por recusa.

#### *4.1.4 Análise das quimiocinas/citocinas séricas*

##### *4.1.4.1 Escores de quantificação sérica de quimiocinas e citocinas (concentração pg/ml)*

Analisou-se a produção sorológica de 7 quimiocinas da família CC: CCL2 (MCP1), CCL3 (MIP1 $\alpha$ ), CCL4 (MIP1 $\beta$ ), CCL5 (Rantes), CCL11 (Eotaxina), CCL17 (TARC) e a CCL20 (MIP3 $\alpha$ ) e de 6 quimiocinas da família CXC: CXCL1 (GroAlfa), CXCL5 (ENA78), CXCL8 (IL-8), CXCL9 (MIG), CXCL10 (IP10) e a CXCL11 (ITAC) pelo método de imunensaio LegendPlex. Optou-se pelas duas nomenclaturas destas 13 quimiocinas na tentativa de minimizar confusões. As demais quimiocinas, quando citadas, seguem a nomenclatura atualmente mais recomendada (CCL ou CXCL).

Analisou-se a produção sorológica de 3 citocinas inflamatórias do tipo IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-10 pelo mesmo método.

##### *4.1.4.1.1 Preparação das alíquotas*

As amostras armazenadas em -80°C foram descongeladas e centrifugadas a 1.000 rpm, durante 10 minutos, para separar o plasma e algumas partículas, obtendo assim o soro individual, separadas em alíquotas de 100  $\mu$ L das 81 pacientes.

#### 4.1.4.2 Análise das quimiocinas/citocinas séricas pelo método LegendPlex

##### 4.1.4.2.1 Legendplex BioLegend TM, San Diego - Califórnia

O Legendplex é um método multiplex para análise do analito solúvel através de esferas conjugadas com anticorpos de captura. A detecção consiste na emissão do fluoróforo repórter. Utilizou-se o *kit* com o painel de quimiocinas pró-inflamatórias humanas já descritas acima. O outro *kit* detectou as citocinas IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-10. Com as alíquotas já preparadas, iniciou-se o preparo das esferas (*beads*), que foram diluídas em 1x na solução tampão fornecida no *kit*, em uma proporção de 1:1. As esferas foram agitadas em um sonicador por 1 minuto, seguido do vórtex durante 30 segundos, antes de usar.

Em seguida calculou-se o volume final de esferas a ser usado. Preparou-se o tampão de lavagem utilizando 25 ml do tampão do *kit* mais 475 ml de água deionizada, deixado a temperatura ambiente e misturado de forma eficiente. Preparou-se a Matrix usada durante o experimento adicionando 5 ml a solução tampão teste do *kit*, no frasco da Matrix, esperando 15 minutos, seguido de mistura usando o vórtex. Reconstituiu-se o padrão que foi diluído serialmente em 7 concentrações diferentes para obtenção da curva padrão. Diluiu-se as amostras 2x com tampão de ensaio antes do teste (exemplo: 50  $\mu$ L tampão + 50  $\mu$ L amostra). Após todas essas etapas prévias realizadas, iniciou-se as etapas na placa de fundo em forma de V. Para o padrão o seguinte mix foi preparado em cada poço: 25  $\mu$ L de Matrix, 25  $\mu$ L de cada padrão e 25  $\mu$ L de esferas.

Já nos poços das amostras previamente delimitados adicionou-se 25  $\mu$ L de tampão de ensaio, 25  $\mu$ L das amostras diluídas e 25  $\mu$ L das esferas que passaram pelo vórtex por 30 segundos. Na sequência selou-se a placa protegida da luz, agitando por 2 horas na velocidade de 800 rpm seguido de centrifugação da placa por 5 minutos a 1.050 rpm em rotor de balde giratório com adaptador de microplaca. Imediatamente após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e adicionado 200  $\mu$ L de tampão de lavagem em cada poço, agitando por 1 minuto a 800 rpm, seguido de centrifugação da placa por 5 minutos a 1.050 rpm em rotor de balde giratório com adaptador de microplaca. Em seguida, descartou-se o sobrenadante adicionado 25  $\mu$ L de anticorpos de detecção em cada poço. A placa foi novamente selada, protegida da luz e incubada em um agitador por 1 hora a 800 rpm.

Logo depois adicionou-se 25  $\mu$ L da streptavidina-ficoeritrina (AS-PE) em cada poço para detecção da captura do analito. Selou-se a placa protegida da luz e novamente incubada por 30 minutos em um agitador à 800 rpm. Após esse prazo realizou-se a precipitação das esferas por centrifugação à 1.050 rpm por 5 minutos em rotor de balde giratório com adaptador de

microplaca. Descartou-se o sobrenadante e retirou-se o restante do reagente de cada poço por pipetagem com o cuidado de não remover as esferas precipitadas. Por fim, adicionou-se 150 µL de tampão de lavagem 1x para preparo da resuspensão das esferas para a leitura no citômetro de fluxo.

#### *4.1.4.2.2. Citometria de fluxo*

Transferiu-se a curva padrão e as amostras para tubos eppendorf para a leitura no citômetro de fluxo. Cada quimiocina no *kit* foi determinada pela intensidade do brilho das esferas. Identificou-se tal intensidade no canal da APC e no canal da PE, através do fluorocromo de detecção da captura do analito pelas esferas. Determinou-se a concentração do analito seguindo os valores de intensidade de fluorescência da curva padrão utilizando o software de análise de dados LegendPlex.

#### *4.1.5. Análise pela imuno-histoquímica do escore inflamatório de células T CD4, T CD8, Treg FOXP3 e do EGFR no microambiente tumoral*

Os blocos de parafina das biópsias foram obtidos dos laboratórios de patologia que emitiram o laudo do CI de mama conforme solicitação do cancerologista responsável pela pesquisa. A maioria dos blocos vieram do Laboratorio de Patologia do HC-UFU, mas também de outros laboratórios da cidade de Uberlândia e cidades vizinhas. Aguardou-se a classificação dos subtipos tumorais pela IH, de cada paciente, em Luminal A, Luminal B, HER2+ ou TN, e posteriormente requisitou-se o bloco de parafina para as análises de interesse deste estudo, sem prejuízo ao tratamento da paciente.

#### *4.1.5.1. Estudo imuno-histoquímico por matrizes de amostras teciduais (TMAs) para avaliar a infiltração de Linfócitos T CD4, T CD8, Treg FOXP3 e de EGFR nos tumores da mama*

Requisitou-se os blocos de parafina contendo os tumores ao longo dos 2 anos da inclusão das pacientes. Esses blocos foram armazenados e posteriormente, em um único momento, fez-se a construção dos blocos de múltiplos espécimes tumorais. A razão para fazer esta análise pela IH posterior e simultaneamente foi para economizar o material reagente, com redução de custo. O mesmo bloco de parafina da IH inicial foi utilizado para marcação dos

Linfócitos T infiltrantes e do EGFR, no tumor, armazenando-os para posterior construção final dos blocos de TMA (BOECKER *et al.*, 2016; ZLOBEC *et al.*, 2013).

As lâminas e blocos de parafina de cada paciente inclusa neste estudo foram, inicialmente, analisados pela patologista revisora para confirmação da área tumoral doadora para a construção do TMA. Quando necessário foram confeccionadas novas lâminas em coloração hematoxilina-eosina (H&E) a partir dos blocos de parafina e, então, demarcadas as áreas de interesse para exérese e montagem dos blocos de TMA. A escolha dos blocos doadores para a confecção do bloco de TMA foi avaliada quanto a quantidade e qualidade de fixação do material através da sua comparação com a lâmina original arquivada, ou pelas novas lâminas confeccionadas.

Após avaliação microscópica dos casos, foram demarcadas as áreas de interesse nas lâminas e blocos correspondentes, para amostragem tecidual e composição do bloco de parafina representativo do TMA. Para a retirada da área tumoral doadora de cada bloco de parafina foram usadas agulhas de 1 mm de diâmetro interno. O equipamento para a confecção do TMA foi da empresa Beecher Instruments Inc. As amostras foram inclusas e mapeadas com orientação espacial organizada em dois eixos (x:y), conforme padronização (ANDRADE *et al.*, 2007). Os benefícios desta metodologia, além da redução de custo, são a análise de um grande número de amostras em uma única lâmina, podendo reduzir o tempo gasto, com possibilidade de comparação entre amostras dinamicamente em mesmo momento e padronização das reações IH utilizadas.

Com essa estratégia, analisou-se dezenas de espécimes em um só momento com os anticorpos para marcação dos Linfócitos T CD4, T CD8, Treg FOXP3 e do EGFR. Os blocos tumorais para análise por TMA foram confeccionados no laboratório de patologia do Hospital Antonio Cândido Camargo em São Paulo (SP), mas não foi possível a realização das reações pela falta de insumos imposta pela pandemia do Sars-CoV2. As reações com os anticorpos anti-Linfócitos T (CD4, CD8 e FOXP3) e anti-EGFR foram realizadas no laboratório de patologia Bacchi em Botucatu (SP). E a leitura das expressões da infiltração tumoral por células linfoides, e da expressão do EGFR, foi realizada no laboratório de patologia NC Laboratório em Uberlândia (MG), pela mesma patologista revisora que inicialmente selecionou as lâminas e os blocos de parafina.

Foram construídos dois blocos de parafina de TMA, cada qual contendo 62 e 54 amostras. Sendo que em cada bloco poderia ser incluso 8 colunas e 8 linhas, podendo conter até 63 amostras teciduais neoplásicas para estudo e uma amostra tecidual de outro órgão para marcação da linha 1 coluna 1, para mapeamento dos casos selecionados. Estes foram submetidos à microtomia e confeccionadas lâminas com respectivos cortes que foram corados

segundo a técnica de H&E bem como encaminhados para as reações de IH. Devido ao custo financeiro reduziu-se a análise dos blocos de parafina para metade das mulheres participantes, selecionando 116 pacientes, também por tabela de contingência, com representação proporcional das 234 pacientes do estudo, nos respectivos subgrupos conforme IH e estadios. Dentre estas 116 pacientes estavam inclusas as 81 pacientes que participaram da análise sérica das quimiocinas.

Os procedimentos com as lâminas com múltiplos espécimes tumorais advindos dos blocos de TMAs seguiram normalmente a rotina da confecção de lâminas para a análise de IH:

1. Desparafinização dos cortes de 3  $\mu$  de espessura, do material incluído em parafina: incubação com xilol a 60°C por 15 minutos seguido de outra incubação com xilol à temperatura ambiente por 15 minutos.

2. Hidratação dos cortes em concentrações de etanol a 100% com 3 banhos de 30 segundos cada, etanol a 95%, 80% e 70% por 30 segundos, lavagem em água corrente e água destilada.

3. Recuperação antigênica mediante incubação das lâminas em solução de ácido cítrico 10 mM pH 6,0 (Merck, E.U.A.) em recipiente a vapor (após a fervura da água da panela, inserido a cuba com as lâminas em solução de recuperação), por 40 minutos. Deixado esfriar por 20 minutos à temperatura ambiente. Lavagens em água corrente e água destilada.

4. Bloqueio da peroxidase endógena com água oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a 6% diluída em metanol, em três banhos de 10 minutos cada. Lavagens em água corrente e água destilada. Lavagem com solução PBS 10 mM, pH 7,4, por 5 minutos.

5. Bloqueio de proteínas com Cas Block (Zymed) por 10 minutos a 37°C, escorrido e incubado com o anticorpo primário.

6. Incubação das lâminas com anticorpo primário (específico para o antígeno) diluído em BSA (SIGMA, E.U.A.) a 1% e azida sódica NaN<sub>3</sub> (Inlab, São Paulo) 0,1% em PBS, em câmara úmida: 30 minutos a 37°C e, em seguida, 18 horas (*overnight*) a 4°C. Lavagens em tampão PBS com 3 trocas de 5 minutos cada.

7. Incubação com o bloqueador pós-primário (Post Primary Block, NovoLink Max Polymer Detection System, Newcastle, Reino Unido), por 30 minutos a 37°C. Lavagens com tampão PBS com 3 trocas de 3 a 5 minutos cada.

8. Incubação com NovoLink (Polymer), do mesmo *kit* por 30 minutos a 37°C.

9. Revelação com solução de substrato cromogênico contendo diaminobenzidina (Sigma, E.U.A.) a 0,10%, peróxido de hidrogênio a 0,06%, dimetil sulfóxido (Labsynth) a 1% em PBS, em banho de 5 minutos, a 37°C. Lavagens em água corrente e água destilada.



10. Contra-coloração com Hematoxilina de Harris por 1 minuto, lavagens em água corrente e água destilada. Imersão rápida em água amoniacal (solução de hidróxido de amônia 0,5%) seguido de lavagens em água corrente e água destilada.

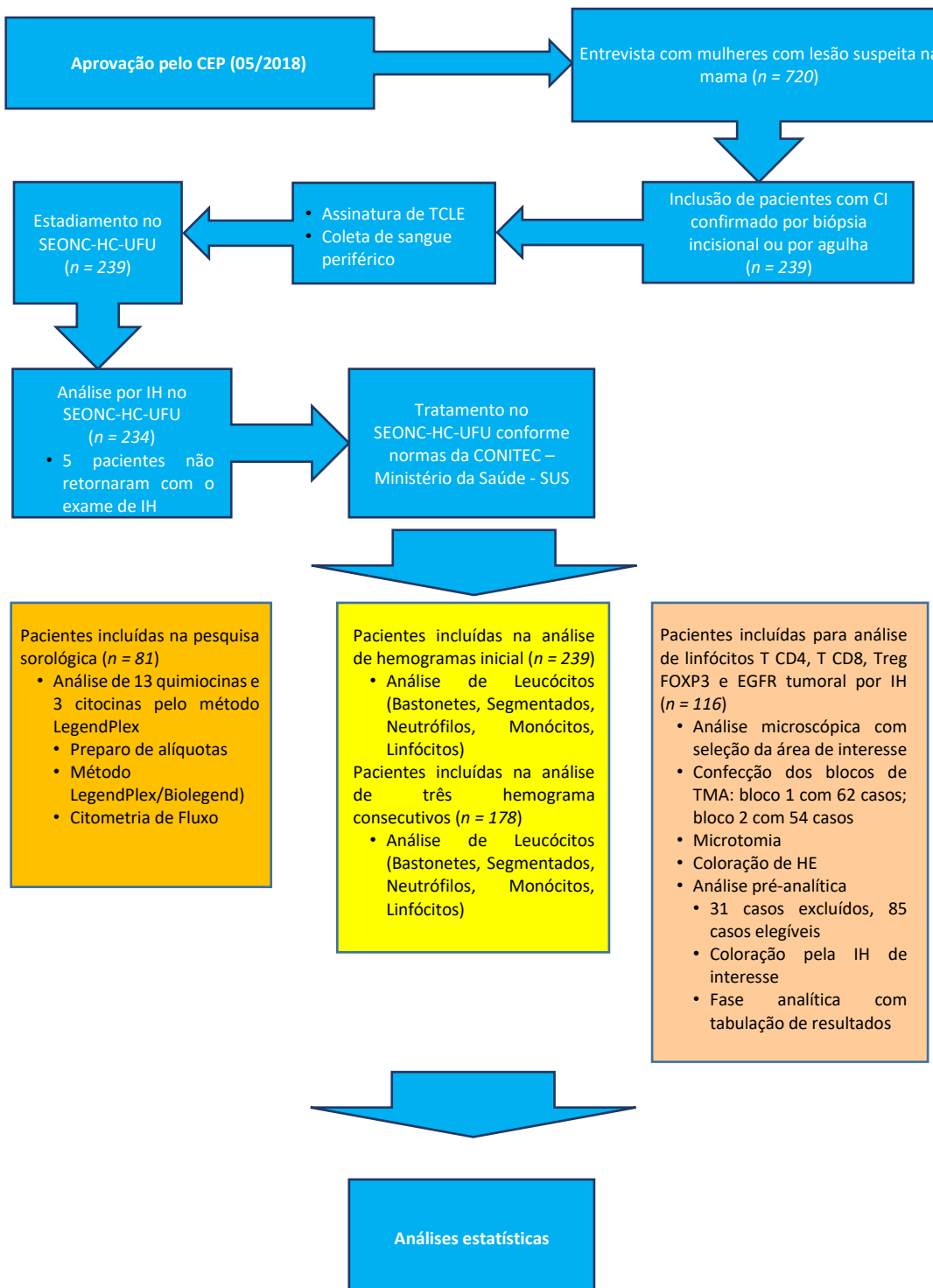
11. Desidratação dos cortes em banhos de etanol a 50%, 80%, 95% e etanol absoluto (3 trocas de 1 minuto cada), diafanização em banhos de xilol e montagem em meio permanente (Entellan Merck) com lamínula.

Para a detecção de Linfócitos T CD4 foi utilizado o clone 4B12, pH alto, por 20 minutos, da marca DAKO. Para a detecção de Linfócitos T CD8 foi utilizado o clone C8/144B, pH baixo, por 20 minutos, da marca DAKO. Para a detecção do Linfócito T FOXP3 foi utilizado o clone EP340, pH alto, por 20 minutos da marca Epitomics. E a expressão no tumor do EGFR foi mensurado usando o clone 31G7, pH alto, por 20 minutos da marca Dako. Esses resultados foram expressos em negativo ou positivo, e estes em percentagem de positividade.

Foi feita uma análise pré-analítica das amostras após a coloração histoquímica de H&E, avaliando a representatividade neoplásica e se estas amostras se enquadravam nos critérios de inclusão. Neste momento foram identificadas 31 amostras sem neoplasia, sendo assim, excluídas da análise do microambiente tumoral. Com estas exclusões houve perda da representatividade neste grupo de análise do TME das 81 pacientes estudadas quanto a expressão das quimiocinas e citocinas.

Para a fase analítica do TME ficaram elegíveis 85 amostras, submetidas a reação de IH, com os anticorpos de interesse, para análise da expressão de Linfócitos T CD4, T CD8, Treg FOXP3 e do EGFR. Analisou-se a percentagem de Linfócitos deste infiltrado, especificando a percentagem da infiltração de Linfócitos T CD4, T CD8 e Treg FOXP3 positivos.

Na Figura 1, vê-se o organograma de inclusão das pacientes.



**Figura 1.** Organograma de inclusão de pacientes com as análises de subgrupos.

## 4.2. Análises estatísticas

O presente estudo avaliou os dados sociodemográficos de 239 pacientes, com dados coletados individualmente por questionários estruturados para captura de informações referentes às medidas de suas características clínicas e patológicas. As análises de IH foram obtidas a partir de 234 exames, as medidas de quimiocinas e citocinas foram feitas em 81 pacientes, hemograma inicial em 239 pacientes, hemogramas sequenciais em 178 pacientes e exames de infiltração tumoral de Linfócitos T e EGFR em 85 casos elegíveis.

A edição dos dados e análise estatística foi processada por meio de análise descritiva e exploratória, testes de comparação, busca de correlação e a análise de sobrevivência feita pelo modelo de Kaplan-Meier, seguido pelo teste de hipótese para comparar curvas de sobrevivência Log-Rank. Os resultados obtidos da análise descritiva e exploratória dos dados definiram a estratégia de análise estatística de comparação de grupos, que foi paramétrica ou não-paramétrica. Para descrever as características de base dos indivíduos foram calculadas as medidas de tendência central e dispersão de acordo com a escala da variável. Variáveis medidas em escalas quantitativas (intervalar ou de razão) foram caracterizadas pela média e desvio-padrão quando a normalidade foi atendida ou mediana e desvio interquartilico quando não era. Variáveis medidas em escalas qualitativas (nominais ou ordinais) foram caracterizadas pelas frequências absolutas e relativas.

Os grupos cujas variáveis comparadas não seguiram a forma de distribuição de probabilidades de Laplace-Gauss (normalidade) foram comparados por meio do teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Student-Newman-Keuls para a comparação simultânea de mais de dois grupos ou por meio do teste de Wilcoxon Rank Sum Test (Mann Whitney) para a comparação de dois grupos. Os grupos cujas variáveis atendiam à normalidade foram comparados por meio dos testes de Análise de Variância com pós-teste de Bonferroni e Teste t-Student para mais de dois grupos e dois grupos respectivamente. Variáveis qualitativas nominais ou ordinais foram comparadas pelos testes Qui-Quadrado e/ou Exato de Fisher (TRIOLA, 2010).

Utilizou-se o teste de Correlação de Spearman para identificar a correlação entre duas variáveis quantitativas ou ordinais. O teste de Correlação de Spearman é uma prova não-paramétrica que avalia a correlação linear entre duas variáveis e admite ligeiras fugas da linearidade (TRIOLA, 2010).

As análises foram processadas por meio dos softwares estatísticos IBM SPSS versão 25, GraphPad Prism 8 e R-STUDIO (versão 3.5.0) para a realização das análises estatísticas dos diversos testes. Em todos os testes o nível de significância considerado foi de  $\alpha \leq 0,05$ .

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Caracterização das pacientes e sobrevidas conforme os subgrupos pela IH e pelo estadiamento

Participaram deste estudo 239 pacientes com CI de mama, com idade média de 55,3 anos ( $\pm 12,7$  anos). O peso médio foi de 68,5 Kg ( $\pm 14,7$  Kg), com altura média de 1,57 m ( $\pm 0,07$  m) e índice de massa corporal (IMC) médio de 27,9 Kg/m<sup>2</sup> ( $\pm 5,7$  Kg/m<sup>2</sup>). A maioria estava na pós-menopausa (66,7%), e uma minoria era tabagista (21,3%) ou etilista (9,2%). O tempo mediano de acompanhamento foi de 33,47 meses (2,47 – 69,10 meses).

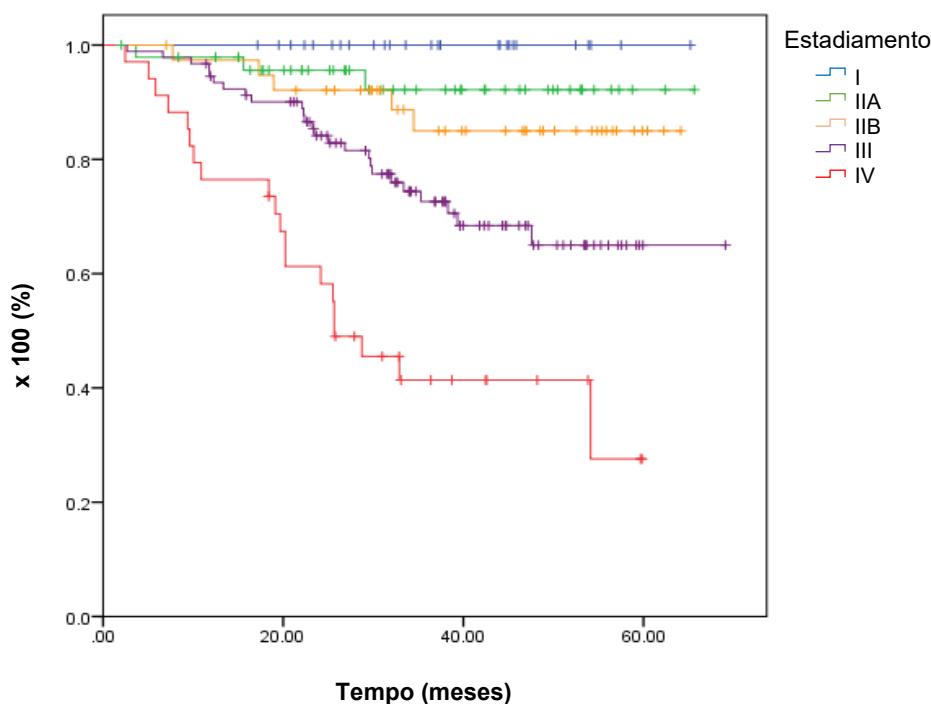
A sobrevida global (SG) em 5 anos foi de 71,2% (IC95%: 63,6 – 79,2). A sobrevida livre de progressão (SLP) em 5 anos foi de 57,7% (IC95%: 37 – 77). A SG conforme o estadiamento das participantes desse estudo, tratadas no SEONC, demonstrou que houve diferença estatisticamente significativa conforme a extensão tumoral. Pacientes nos estadios iniciais sobreviveram mais que pacientes nos estadios mais avançados conforme mostrado na Tabela 1 e na Figura 2.

**Tabela 1.** Sobrevida global conforme o estadiamento das pacientes com câncer de mama.

Estadiamento	N.	N. de eventos	SG (5 anos)	IC95%	
I	26	0	100,0%	*	*
IIA	48	3	92,2%	83,2%	100,0%
IIB	39	5	85,0%	73,0%	97,0%
III	92	25	65,0%	53,0%	77,0%
IV	34	20	27,6%	4,0%	51,0%

Teste de Log-Rank  $p < 0,001$ ;  $n = 239$  pacientes.

Legenda: N.: número; SG: sobrevida global; IC95%: intervalo de confiança; \*: sem eventos.



**Figura 2.** Curva de sobrevida global por estadiamento das pacientes do estudo (n = 239; Log-Rank  $p < 0,001$ ).

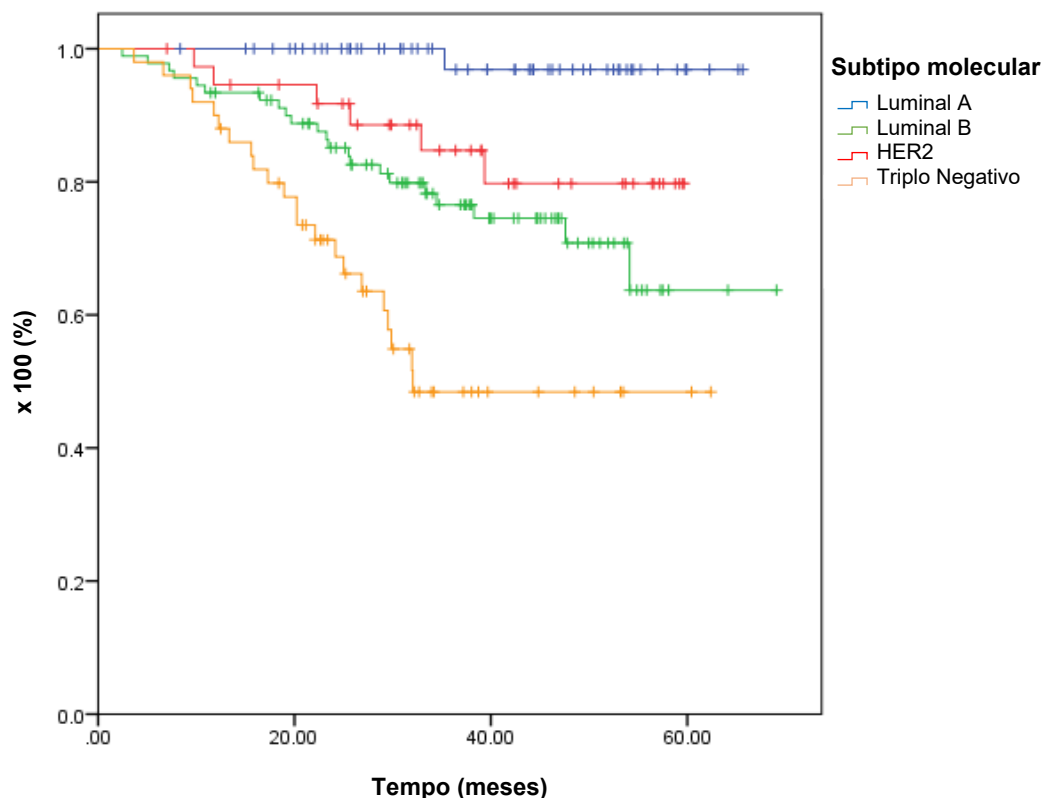
O subtipo tumoral, conforme a IH, também influenciou na SG. Como 5 pacientes não retornaram com o exame de IH, a análise foi realizada em 234 casos. As portadoras de tumores Luminais A sobreviveram mais do que as demais pacientes ( $p \leq 0,001$ ). A segunda melhor SG foi das pacientes do subgrupo HER2+, ressaltando que todas fizeram uso do anticorpo monoclonal trastuzumabe. As pacientes com tumores de mama Luminal B sobreviveram menos do que aquelas HER2+ ( $p \leq 0,001$ ). E a menor SG ocorreu nas portadoras de tumores TN, conforme demonstrado na Tabela 2 e na Figura 3.

**Tabela 2.** Sobrevida global conforme o subtipo tumoral pela imuno-histoquímica.

Subtipo molecular	N.	N. de eventos	SG (5 anos)	IC95%	
Luminal A	55	1	97,0%	89,0%	100,0%
Luminal B	91	22	63,7%	47,7%	80,0%
HER2	38	6	79,7%	66,0%	94,0%
Triplo Negativo	50	22	48,4%	32,0%	64,0%

Teste de Log-Rank  $p < 0,001$ ,  $n = 234$  pacientes.

Legenda: N.: número; SG: sobrevida global; IC95%: intervalo de confiança.



**Figura 3.** Curva de sobrevivência global por subtipos tumorais pela imuno-histoquímica (n = 234 pacientes; Log-Rank  $p < 0,001$ ).

## 5.2 Correlações entre as concentrações das quimiocinas (pg/ml)

Analisou-se as correlações das quimiocinas e citocinas de 81 pacientes. Ressaltando que, a depender da quimiocina/citocina, não foram todas as 81 pacientes que apresentaram detecção na concentração sérica destas proteínas, resultando em números diferentes de pacientes que expressaram as diversas quimiocinas/citocinas estudadas. Dentre as pacientes que expressaram qualquer concentração de quimiocina/citocina foi calculado a média, a mediana, o desvio-padrão (DP) e os valores mínimos e máximos.

O estudo dos dados demonstrou correlação entre as CC-quimiocinas entre si e com as CXC-quimiocinas entre si. A maioria das quimiocinas destes dois grupos, CC e CXC, também apresentaram correlações significativas entre elas ( $p \leq 0,05$ ) (Tabelas 3 e 4). Das 13 quimiocinas analisadas apenas 3 delas – ENA78/CXCL5, TARC/CCL17 e MIP3 $\alpha$ /CCL20 – apresentaram baixa ou nenhuma correlação.

**Tabela 3.** Comparação de correlações entre as quimiocinas CC.

Quimiocinas	MCP1/CCL2		MIP1 $\alpha$ /CCL3		MIP1 $\beta$ /CCL4		Rantes/CCL5		Eotaxina/CCL11		TARC/CCL17		MIP3 $\alpha$ /CCL20	
	R	Valor-p	R	Valor-p	R	Valor-p	R	Valor-p	R	Valor-p	R	Valor-p	R	Valor-p
<b>MCP1/CCL2</b>	1,00		0,47	0,000	0,47	0,000	0,40	0,001	0,76	0,000	0,34	0,007	0,003	0,816
<b>MIP1<math>\alpha</math>/CCL3</b>	0,47	0,000	1,00		0,62	0,000	0,36	0,006	0,52	0,000	0,36	0,005	0,25	0,082
<b>MIP1<math>\beta</math>/CCL4</b>	0,47	0,000	0,62	0,000	1,00		0,24	0,059	0,45	0,000	0,31	0,016	0,29	0,036
<b>Rantes/CCL5</b>	0,40	0,001	0,36	0,006	0,24	0,059	1,00		0,40	0,002	0,07	0,578	-0,05	0,725
<b>Eotaxina/CCL11</b>	0,76	0,000	0,52	0,000	0,45	0,000	0,40	0,002	1,00		0,24	0,056	0,03	0,844
<b>TARC/CCL17</b>	0,34	0,007	0,36	0,005	0,31	0,016	0,07	0,578	0,24	0,056	1,00		0,12	0,400
<b>MIP3<math>\alpha</math>/CCL20</b>	0,03	0,816	0,25	0,082	0,29	0,036	-0,05	0,725	0,03	0,844	0,12	0,400	1,00	
<b>GroAlfa/CXCL1</b>	0,47	0,000	0,74	0,000	0,49	0,000	0,54	0,000	0,39	0,002	0,33	0,011	0,14	0,337
<b>ENA78/CXCL5</b>	-0,12	0,372	0,02	0,867	-0,13	0,343	0,02	0,910	-0,04	0,802	-0,04	0,791	-0,47	0,001
<b>IL-8/CXCL8</b>	0,37	0,005	0,89	0,000	0,53	0,000	0,39	0,003	0,54	0,000	0,20	0,149	0,38	0,007
<b>MIG/CXCL9</b>	0,55	0,000	0,60	0,000	0,46	0,000	0,54	0,000	0,49	0,000	0,11	0,399	0,01	0,956
<b>IP10/CXCL10</b>	0,58	0,000	0,53	0,001	0,60	0,000	0,25	0,159	0,53	0,001	0,13	0,436	0,24	0,222
<b>ITAC/CCL11</b>	0,44	0,001	0,75	0,000	0,34	0,009	0,38	0,004	0,49	0,000	0,28	0,035	0,22	0,117

Legenda: R: correlação de Spearman.

**Tabela 4.** Comparação de correlações entre as quimiocinas CXC.

Quimiocinas	GroAalfa/CXCL11		ENA78/CXCL5		IL-8/CXCL8		MIG/CXCL9		IP10/CXCL10		ITAC/CXCL11	
	R	Valor-p	R	Valor-p	R	Valor-p	R	Valor-p	R	Valor-p	R	Valor-p
<b>MCP1/CCL2</b>	0,47	0,000	-0,12	0,372	0,37	0,005	0,55	0,000	0,58	0,000	0,44	0,001
<b>MIP1<math>\alpha</math>/CCL3</b>	0,74	0,000	0,02	0,867	0,89	0,000	0,60	0,000	0,53	0,001	0,75	0,000
<b>MIP1<math>\beta</math>/CCL4</b>	0,49	0,000	-0,13	0,343	0,53	0,000	0,46	0,000	0,60	0,000	0,34	0,09
<b>Rantes/CCL5</b>	0,54	0,000	0,02	0,910	0,39	0,003	0,54	0,000	0,25	0,159	0,38	0,004
<b>Eotaxina/CCL11</b>	0,39	0,002	-0,04	0,802	0,54	0,000	0,49	0,000	0,53	0,001	0,49	0,000
<b>TARC/CCL17</b>	0,33	0,011	-0,04	0,791	0,20	0,149	0,11	0,399	0,13	0,436	0,28	0,035
<b>MIP3<math>\alpha</math>/CCL20</b>	0,14	0,337	-0,47	0,001	0,38	0,007	0,01	0,956	0,24	0,222	0,22	0,117
<b>GroAlfa/CXCL1</b>	1,00		0,03	0,854	0,66	0,000	0,58	0,000	0,46	0,006	0,58	0,000
<b>ENA78/CXCL5</b>	0,03	0,854	1,00		0,11	0,465	0,10	0,481	-0,34	0,070	0,16	0,279
<b>IL-8/CXCL8</b>	0,66	0,000	0,11	0,465	1,00		0,67	0,000	0,63	0,000	0,83	0,000
<b>MIG/CXCL9</b>	0,58	0,000	0,10	0,481	0,67	0,000	1,00		0,61	0,000	0,66	0,000
<b>IP10/CXCL10</b>	0,46	0,006	-0,34	0,070	0,63	0,000	0,61	0,000	1,00		0,49	0,006
<b>ITAC/CXCL11</b>	0,58	0,000	0,16	0,279	0,83	0,000	0,66	0,000	0,49	0,006	1,00	

Legenda: R: correlação de Spearman.



### 5.3. Correlações da expressão das células sanguíneas periféricas

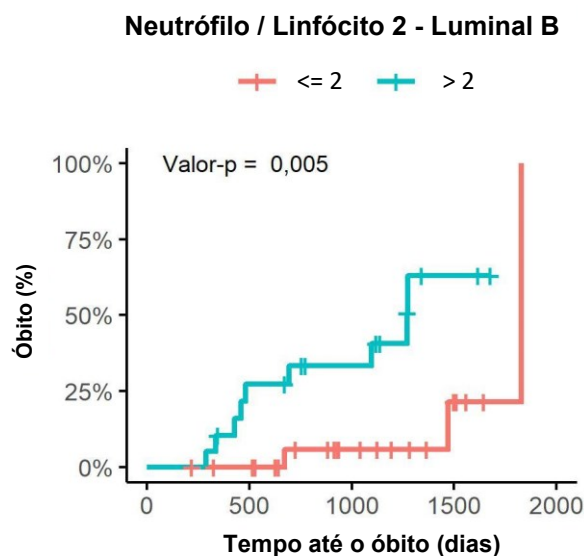
Na análise entre as células do sangue periférico em número absoluto de Leucócitos, Linfócitos, Neutrófilos, Segmentados, Bastonetes e Monócitos encontrou-se correlação significativa e positiva entre Leucócitos do primeiro hemograma e a citocina IL-6 (Spearman +0,2513;  $p = 0,0435$ ) e correlação significativa, mas inversa, com as quimiocinas Rantes/CCL5 (Spearman -0,4019;  $p = 0,0029$ ) e GroAlfa/CXCL1 (Spearman -0,2783;  $p = 0,0458$ ). Houve relação significativa, mas inversa entre o número absoluto de Linfócitos do primeiro hemograma e a quimiocina MCP1/CCL2 (Spearman -0,3587;  $p = 0,0077$ ). Houve correlação significativa e positiva entre o número absoluto de Monócitos do primeiro hemograma e a quimiocina IP10/CXCL10 (Spearman +0,3915;  $p = 0,0267$ ) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Correlações das expressões das células sanguíneas periféricas com citocinas e quimiocinas.

	<b>Leucócitos do 1º hemograma</b>	<b>Monócitos do 1º hemograma</b>	<b>Linfócitos do 1º hemograma</b>
<b>IL-6</b>	Spearman +0,2513; $p = 0,0435$	NS	NS
<b>Rantes/CCL5</b>	Spearman -0,4019; $p = 0,0029$	NS	NS
<b>GroAlfa/CXCL1</b>	Spearman -0,2783; $p = 0,0458$	NS	NS
<b>MCP1/CCL2</b>	NS	NS	Spearman -0,3587; $p = 0,0077$
<b>IP10/CXCL10</b>	NS	Spearman +0,3915; $p = 0,0267$	NS

*Legenda: NS = não significativa.*

Na análise de SG com relação ao valor da razão de Neutrófilos/Linfócitos acima de 2, no primeiro hemograma, nas pacientes com tumores de mama Luminal B houve diferença significativa no risco de óbito (Log-Rank  $p = 0,005$ ), sendo que as pacientes com valores acima de 2 apresentaram maior risco de morte quando comparadas às pacientes que apresentaram o valor da razão abaixo desse valor (Figura 4).



**Figura 4.** Risco de 3f3bito nas pacientes com c3f3ncer de mama Luminal B conforme a raz3f3o de Neutr3f3filos/Linf3f3citos (n = 91 pacientes; Log-Rank p = 0,005).

Na an3f3lise dos 178 pacientes que colheram hemogramas consecutivamente (o primeiro colhido antes de qualquer tratamento oncol3f3gico, o segundo colhido 6 meses ap3f3s, e o terceiro hemograma colhido 12 meses ap3f3s esse tratamento), aquelas com valor da raz3f3o Neutr3f3filos/Linf3f3citos >3, no terceiro hemograma apresentaram menor SG (Log-Rank p = 0,000). Ou seja, quanto maior a raz3f3o Neutr3f3filos/Linf3f3citos no 3f3ltimo hemograma maior 3f3 o risco de 3f3bito.

#### 5.4 An3f3lises das caracter3f3sticas cl3f3nicas e patol3f3gicas entre si e com as concentra3f3es s3f3ricas das quimiocinas, citocinas e c3f3lulas sangu3f3neas perif3f3ricas

##### 5.4.1 Estadiamento

Nas an3f3lises da correla3f3o entre a concentra3f3o das quimiocinas e citocinas conforme a extens3f3o do tumor prim3f3rio, usou-se a classifica3f3o patol3f3gica do tumor (pT) por ser mais precisa do que a classifica3f3o cl3f3nica. Fez-se inicialmente para cada quimiocina e citocina as an3f3lises por cada categoria (pT1, pT2, pT3 e pT4), pelo agrupamento dos tumores iniciais (pT1 + pT2) *versus* tumores avan3f3ados (pT3 + pT4) e pelo agrupamento dos tumores pT1 + pT2 + pT3 *versus* os tumores mais avan3f3ados localmente (pT4). Na an3f3lise da extens3f3o patol3f3gica do tumor n3f3o se encontrou correla3f3o significativa com nenhuma quimiocina.

Nas análises das médias e medianas das quimiocinas e citocinas, com relação ao comprometimento de linfonodos axilares pela neoplasia (pN), encontrou-se que nas pacientes com algum comprometimento tumoral em linfonodo axilar (categoria pN1 + N2 + N3+) há maior expressão de citocina TNF- $\alpha$  (Spearman +0,3273;  $p = 0,0065$ ) em relação às pacientes com linfonodos axilares negativos (categoria pN0). E não se encontrou outras correlações entre a extensão do tumor para os linfonodos axilares e as demais quimiocinas ( $p > 0,05$ ).

Na Tabela 6 apresenta-se os valores séricos das quimiocinas e citocinas encontradas conforme toda a extensão tumoral da paciente, estratificados pelos estadiamentos (I, IIA, IIB, III e IV) e por agrupamento (pacientes não metastáticos e metastáticos), e encontrou-se poucas correlações com as concentrações de quimiocinas e citocinas. As duas alterações, encontradas apenas nas pacientes do estadio IV, foram relacionadas aos valores de TNF- $\alpha$  e IL-10. Valores de TNF- $\alpha$  abaixo da mediana de 2,34 pg/ml propiciaram um maior risco de morte (Log-Rank  $p = 0,025$ ), quando comparadas com as pacientes com o TNF- $\alpha$  acima da mediana.

Com relação a IL-10 houve uma correlação inversa, sendo mensurado menor concentração desta citocina nas pacientes com metástases ao diagnóstico (Spearman -0,2330;  $p = 0,0473$ ), mas sem interferência na SG ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 6.** Mensurações séricas das quimiocinas/citocinas (concentração em pg/ml) conforme os estadiamentos.

Quimiocinas	Estadiamento	N	Média	Mediana	DP	Mín	Máx	Valor-p
<b>IL-6</b> (73 pacientes)	I	9	5,84	7,02	2,52	2,50	8,42	0,450
	IIA	22	6,89	4,46	6,65	2,50	30,57	
	IIB	6	4,98	3,98	3,14	2,50	10,79	
	III	30	14,56	6,45	19,64	2,50	90,72	
	IV	6	5,48	5,70	2,36	2,50	9,39	0,680
	I+IIA+IIB+III	67	10,01	1,83	14,23	2,50	90,72	
	IV	6	5,48	5,70	2,36	2,50	9,39	
<b>IL-10</b> (73 pacientes)	I	9	1,71	1,49	0,43	1,47	2,68	0,260
	IIA	22	1,69	1,47	0,61	1,47	4,28	
	IIB	6	1,83	1,47	0,78	1,47	3,40	
	III	30	1,89	1,47	0,69	1,47	4,18	
	IV	6	1,47	1,47	0,00	1,47	1,47	0,049
	I+IIA+IIB+III	67	1,80	1,47	0,64	1,47	4,28	
	IV	6	1,47	1,47	0,00	1,47	1,47	
<b>TNF-<math>\alpha</math></b> (74 pacientes)	I	9	2,34	2,34	0,00	2,34	2,34	0,015
	IIA	22	2,34	2,34	0,00	2,34	2,34	
	IIB	6	3,43	2,67	1,74	2,34	6,80	
	III	30	3,07	2,34	2,39	2,34	12,18	
	IV	7	2,72	2,34	1,00	2034	5,00	0,926
	I+IIA+IIB+III	67	2,77	2,34	1,71	2,34	12,18	
	IV	7	2,72	2,34	1,00	2,34	5,00	
<b>IL-8/CXCL8</b> (55 pacientes)	I	7	497,70	275,34	589,90	16,77	1.437,81	0,891
	IIA	19	635,65	388,65	733,29	24,03	2.503,34	
	IIB	5	428,16	289,45	532,31	49,60	1.341,70	
	III	19	857,95	325,24	1.159,52	14,14	3.910,47	
	IV	5	857,44	246,27	1.436,94	25,00	3.398,63	0,826
	I+IIA+IIB+III	50	680,06	327,12	883,98	14,14	3.910,47	
	IV	5	857,44	246,27	1.436,94	25,00	3.398,63	
<b>IP10/CXCL10</b> (30 pacientes)	I	6	60,64	60,11	3,02	57,37	64,71	0,075
	IIA	13	64,79	64,16	4,92	57,33	75,22	
	IIB	5	65,51	64,90	4,28	59,45	70,46	
	III	10	60,39	60,29	7,50	43,62	71,96	
	IV	2	58,43	58,43	0,28	58,23	58,63	0,120
	I+IIA+IIB+III	28	62,87	62,03	5,75	43,62	75,22	
	IV	2	58,43	58,43	0,28	58,23	58,63	

Legenda: N= número; DP = desvio-padrão; Mín: mínimo; Máx = máximo.

(Continua)

(Continuação)

Quimioterápicos	Estadiamento	N	Média	Mediana	DP	Mín	Máx	Valor-p
<b>Eotaxina/CCL11</b> (62 pacientes)	I	7	355,92	283,33	440,16	81,31	1.321,66	0,839
	IIA	21	273,43	198,95	251,19	71,05	1.028,34	
	IIB	6	262,58	252,99	99,02	118,92	420,57	
	III	23	226,01	185,86	143,89	20,42	612,79	
	IV	5	189,20	134,23	80,42	125,80	291,72	
	I+IIA+IIB+III	57	263,29	203,51	232,34	20,42	1.321,66	0,535
	IV	5	189,20	134,23	80,42	125,80	291,72	
<b>TARC/CCL17</b> (63 pacientes)	I	7	111,59	58,26	136,15	16,53	410,11	0,432
	IIA	21	52,52	39,03	34,43	6,36	133,19	
	IIB	7	141,65	72,86	167,54	14,29	474,21	
	III	23	95,14	82,63	86,11	1,27	340,49	
	IV	5	125,33	83,75	113,13	20,79	313,53	
	I+IIA+IIB+III	58	87,31	51,91	95,34	1,27	474,21	0,315
	IV	5	125,33	83,75	113,13	20,79	313,53	
<b>MCP1/CCL2</b> (63 pacientes)	I	7	250,81	163,67	266,11	67,38	826,24	0,754
	IIA	21	225,00	167,29	129,43	55,08	503,54	
	IIB	7	270,00	227,30	252,36	22,93	799,43	
	III	23	243,69	235,63	128,88	1,55	604,19	
	IV	5	170,31	128,88	89,23	84,68	274,44	
	I+IIA+IIB+III	58	240,96	221,22	163,27	1,55	826,24	0,409
	IV	5	170,31	128,88	89,23	84,68	274,44	
<b>Rantes/CCL5</b> (63 pacientes)	I	7	250,81	163,67	266,11	67,38	826,24	0,754
	IIA	21	225,00	167,29	129,43	55,08	503,54	
	IIB	7	270,00	227,30	252,36	22,93	799,43	
	III	23	243,69	235,63	128,88	1,55	604,19	
	IV	5	170,31	128,88	89,23	84,68	274,44	
	I+IIA+IIB+III	58	240,96	221,22	163,27	1,55	826,24	0,409
	IV	5	170,31	128,88	89,23	84,68	274,44	
	IV	5	3.157,30	2.747,07	1.598,00	1.062,52	5.125,89	

Legenda: N= número; DP = desvio-padrão; Mín: mínimo; Máx = máximo.

(Continua)

(Continuação)

Quimiocinas	Estadiamento	N	Média	Mediana	DP	Mín	Máx	Valor-p
<b>MIP1<math>\alpha</math>/CCL3</b> (61 pacientes)	I	7	130,51	145,49	64,54	60,42	21,94	0,854
	IIA	21	179,58	137,56	106,67	70,83	467,75	
	IIB	6	184,85	173,23	104,48	76,58	331,80	
	III	22	167,14	131,58	126,77	50,71	633,93	
	IV	5	176,57	136,38	107,03	80,71	328,13	
	I+IIA+IIB+III	56	169,12	139,81	109,45	50,71	633,93	0,948
IV	5	176,57	136,38	107,03	80,71	328,13		
<b>MIG/CXCL9</b> (61 pacientes)	I	7	78,88	74,91	41,17	36,79	127,36	0,366
	IIA	21	121,60	107,51	41,87	69,39	198,75	
	IIB	6	120,51	123,27	49,55	54,44	172,30	
	III	22	136,58	112,27	76,91	32,86	338,58	
	IV	5	122,88	143,48	58,09	49,79	187,05	
	I+IIA+IIB+III	56	122,03	108,39	60,22	32,86	338,58	0,864
IV	5	122,88	143,48	58,09	49,79	187,05		
<b>ENA78/CXCL5</b> (54 pacientes)	I	7	451,36	352,04	503,77	8,08	1.253,33	0,401
	IIA	18	855,13	419,94	1.089,72	4,27	3.430,64	
	IIB	7	291,95	96,56	384,07	4,52	922,23	
	III	18	763,23	527,79	763,00	3,49	2.699,68	
	IV	4	45,91	26,91	55,52	2,49	127,35	
	I+IIA+IIB+III	50	686,67	372,36	840,15	3,49	3.430,64	0,109
IV	4	45,91	26,91	55,52	2,49	127,35		
<b>MIP3<math>\alpha</math>/CCL20</b> (53 pacientes)	I	5	1.767,76	141,61	2.352,22	10,60	4.861,70	0,897
	IIA	18	1.998,35	184,35	3.822,23	16,55	15.617,72	
	IIB	6	948,59	68,33	1.918,66	24,78	4.833,39	
	III	19	1.090,90	75,45	1.733,39	22,56	4.719,93	
	IV	5	883,36	53,67	1.402,70	28,52	3.276,67	
	I+IIA+IIB+III	48	1.483,91	95,39	2.739,79	10,60	15.617,72	0,553
IV	5	883,36	53,67	1.402,70	28,52	3.276,67		
<b>GroAlfa/CXCL1</b> (60 pacientes)	I	7	43.286,82	432,52	113.336,95	157,47	300.377,85	0,966
	IIA	20	713,46	547,87	579,15	138,88	2.336,74	
	IIB	7	1.334,77	572,27	1.879,52	211,92	5.418,06	
	III	21	1.827,94	515,25	4.494,54	42,48	20.936,72	
	IV	5	982,95	515,25	4.494,54	42,48	20.936,72	
	I+IIA+IIB+III	55	6.636,49	518,76	40.444,45	42,48	300.377,85	0,810
IV	5	982,95	761,53	956,56	153,32	2.471,56		

Legenda: N= número; DP = desvio-padrão; Mín: mínimo; Máx = máximo.

(Continua)

(Continuação)

Quimiocinas	Estadiamento	N	Média	Mediana	DP	Mín	Máx	Valor-p
ITAC/CXCL11 (56 pacientes)	I	6	148,80	104,34	151,44	6,48	341,29	0,501
	IIA	19	1.329,80	155,30	3.382,05	10,10	13.402,80	
	IIB	6	145,46	50,04	198,62	17,29	535,00	
	III	20	1.285,24	286,93	3.198,61	4,25	14.288,88	
	IV	5	3.110,65	255,74	6.645,02	11,21	14.995,65	
	I+IIA+IIB+III	51	1.034,05	161,32	2.873,87	4,25	14.288,88	0,954
IV	5	3.110,65	255,74	6.645,02	11,21	14.995,65		
MIP1 $\beta$ /CCL4 (61 pacientes)	I	7	27,75	29,89	27,14	0,81	79,76	0,507
	IIA	21	44,69	32,56	39,32	15,73	196,99	
	IIB	6	55,09	53,23	32,05	19,56	100,86	
	III	22	44,75	39,70	34,75	6,33	162,31	
	IV	5	38,20	44,45	23,81	11,40	64,88	
	I+IIA+IIB+III	56	43,71	34,53	35,27	0,81	196,99	0,864
IV	5	38,20	44,45	23,81	11,40	64,88		

Legenda: N= número; DP = desvio-padrão; Mín: mínimo; Máx = máximo.

#### 5.4.2 Idade

Houve correlação inversa entre a idade com a expressão do Ki67 (Spearman -0,14291;  $p = 0,0278$ ) e correlação direta com as citocinas IL-6 (Spearman +0,2392;  $p = 0,0416$ ) e IL-10 (Spearman +0,3027;  $p = 0,0092$ ). A quimiocina IP10/CXCL10 (Spearman +0,4360;  $p = 0,0079$ ) apresentou correlação direta com a idade. Estratificando as pacientes em grupos de menor ou maior de 70 anos permaneceu a correlação com a quimiocina IP10/CXCL10 (Spearman +0,3914;  $p = 0,0183$ ) e detectou-se correlação com a TARC/CCL17 (Spearman +0,2648;  $p = 0,0360$ ) com maior expressão dessa quimiocina no grupo de maior idade (Tabela 7).

#### 5.4.3 IMC

Para a análise do índice de massa corporal (IMC) foi considerado sobrepeso se IMC entre 25,0 e 29,9 Kg/m<sup>2</sup>; obesidade grau I se IMC entre 30,0 e 34,9 Kg/m<sup>2</sup>; obesidade grau II se IMC entre 35,0 e 39,9 Kg/m<sup>2</sup>; e obesidade grau III se IMC maior do que 40,0 Kg/m<sup>2</sup>. Aquelas com maior IMC (obesidade graus I, II e III) apresentaram correlação direta com maior número de Leucócitos totais no primeiro hemograma (Spearman +0,3055;  $p=0,0029$ ). Houve correlação inversa (quanto maior o IMC menor a expressão da quimiocina) com a Rantes/CCL5 (Spearman -0,3098;  $p = 0,0169$ ). E encontrou-se também correlação inversa e significativa da Eotaxina/CCL11 com o peso da paciente (Spearman -0,2575;  $p = 0,0470$ ), mas não com o IMC (Spearman - 0,16388;  $p = 0,21087$ ) (Tabela 7).

#### 5.4.4 Álcool e Tabaco

Na comparação das médias e medianas das quimiocinas entre as usuárias de álcool não se encontrou nenhuma correlação. Mas estas pacientes etilistas, independente da dose, apresentaram uma correlação positiva do etilismo com maior volume tumoral da mama (pT) detectado na peça cirúrgica (Spearman +0,1650;  $p = 0,0252$ ). Não foi encontrado tal correlação nas não etilistas. As fumantes apresentaram um maior número de Leucócitos no primeiro hemograma (Spearman +0,2296;  $p = 0,0229$ ), além de maior infiltração de células inflamatórias no TME (Spearman +0,7223;  $p = 0,0280$ ) e maior concentração de MIP3 $\alpha$ /CCL20 (Spearman +0,3344;  $p = 0,0267$ ) (Tabela 7). Não foram encontradas correlações significativas com as não usuárias do tabaco.



**Tabela 7.** Análises das características clínicas das pacientes e suas correlações com citocinas, quimiocinas, Leucócitos e características patológicas do tumor.

	Idade	IMC	Peso (Kg)	Etilismo	Tabagismo
IL-6	Spearman +0,2392; p = 0,0416	NS	NS	NS	NS
IL-10	Spearman +0,3027; p = 0,0092	NS	NS	NS	NS
IP10/CXCL10	Spearman +0,4360; p = 0,0079	NS	NS	NS	NS
TARC/CCL17 (+/-70 anos)	Spearman +0,2648; p = 0,0360	NS	NS	NS	NS
Eotaxina/CCL11	NS	NS	Spearman -0,2575; p = 0,0470	NS	NS
Rantes/CCL5	NS	Spearman -0,3098; p = 0,0169	NS	NS	NS
MIP3 $\alpha$ /CCL20	NS	NS	NS	NS	Spearman +0,3344; p = 0,0267
Leucócitos totais no 1 <sup>o</sup> hemograma	NS	Spearman +0,3055; p = 0,0029	NS	NS	Spearman +0,2296; p = 0,0229
Maior pT	NS	NS	NS	Spearman +0,1650; p = 0,0252	NS
Maior inflamação no TME	NS	NS	NS	NS	Spearman +0,2296; p = 0,0229
Ki67	Spearman -0,14291; p = 0,02783	NS	NS	NS	NS

Legenda: IMC = Índice de massa corporal; Kg = quilograma; NS = não significativa; pT = tumor detectado na peça cirúrgica; TME = microambiente tumoral.

#### 5.4.5 Características patológicas entre si

Algumas características patológicas da neoplasia influenciaram a sua extensão tumoral. Houve correlação do estadiamento mais avançado como o maior grau histológico tumoral (Spearman +0,20664; p = 0,0014), com os tumores HER2+ (Spearman +0,15809; p = 0,0157), com a maior positividade do Ki67 (Spearman +0,21509; p = 0,0009). Encontrou-se maior positividade axilar pela neoplasia nos pacientes Luminais, havendo correlação positiva entre o RE (Spearman +0,1710; p = 0,0148) e o RP (Spearman +0,1469; p = 0,0360) com a maior extensão de doença presente na axila (Tabela 8).

Analisou-se também a correlação entre o EGFR, mensurado pela IH no tumor, e os demais receptores celulares. Houve correlação inversa entre o EGFR e o RE (Spearman -0,7648;

$p = 0,000$ ). A correlação inversa também foi encontrada entre EGFR e RP (Spearman  $-0,5818$ ;  $p = 0,000$ ). Também existiu correlação significativa e direta entre a positividade do EGFR e o maior valor de Ki67, naquelas mulheres que expressaram o tumor com mais 14,0% do valor de Ki67 (Spearman  $+0,4737$ ;  $p = 0,0000$ ). Detectou-se uma relação estatisticamente significativa entre o EGFR e o p53 (Spearman  $+0,3535$ ;  $p = 0,0031$ ).

Encontrou-se correlação entre o EGFR e o subtipo dos tumores indentificados pela IH (Spearman  $+0,6722$ ;  $p = 0,0000$ ). Nas pacientes com tumores Luminal A apenas uma (3,6%) paciente apresentou EGFR positivo. Dentre aquelas com tumores Luminais B quatro (14,3%) pacientes apresentaram o EGFR positivo. Naquelas HER2+ cinco (17,9%) pacientes apresentaram o EGFR positivo. E naquelas com tumores TN o EGFR foi positivo em 18 (64,3%) pacientes.

Na presença da expressão da proteína p53 mutante houve correlação com outros fatores, como o maior grau de diferenciação das células tumorais (Spearman  $+0,2482$ ;  $p = 0,013$ ), com o Ki67 hiperexpresso (Spearman  $+0,4414$ ;  $p = 0,0000$ ), e uma correlação inversa com a expressão de RE (Spearman  $-0,1958$ ;  $p = 0,0107$ ) (Tabela 8).

**Tabela 8.** Análise das características patológicas do tumor entre si e suas correlações.

	Maior estadiamento	Maior positividade axilar pN1+2+3 vs pN0	Expressão de EGFR	Expressão do p53
RE+	NS	Spearman $+0,1710$ ; $p = 0,0148$	Spearman $-0,7648$ ; $p = 0,0000$	Spearman $-0,1958$ ; $p = 0,0107$
RP+	NS	Spearman $+0,1469$ ; $p = 0,0360$	Spearman $-0,5818$ ; $p = 0,0000$	NS
HER2+	Spearman $+0,15809$ ; $p = 0,0157$	NS	NS	NS
> Ki67+	Spearman $+0,21509$ ; $p = 0,0009$	NS	Spearman $+0,4737$ ; $p = 0,0000$	Spearman $+0,4414$ ; $p = 0,0000$
p53+	NS	NS	Spearman $+0,3535$ ; $p = 0,0031$	NS
> Grau de diferenciação tumoral	Spearman $+0,20664$ ; $p = 0,0014$	NS	NS	Spearman $+0,2482$ ; $p = 0,013$

Legenda: EGFR = receptor do fator de crescimento epidérmico; NS = não significativo; RE= receptor de estrogênio; RP= receptor de progesterona; HER2 = receptor epidermal humano 2.

#### 5.4.6 Características patológicas com as quimiocinas e citocinas

Encontrou-se que as pacientes com maior infiltrado peritumoral expressaram maior concentração das quimiocinas MCP1/CCL2 (Spearman  $+0,4726$ ;  $p = 0,0197$ ) e GroAlfa/CXCL1 (Spearman  $+0,4478$ ;  $p = 0,0321$ ), sendo que o infiltrado peritumoral presente se correlacionou

com maior progressão da neoplasia (Spearman +0,7000;  $p = 0,0358$ ). Não houve nenhuma correlação do infiltrado inflamatório tumoral com as demais quimiocinas/citocinas ( $p > 0,05$ ).

Analisou-se também a correlação das quimiocinas conforme as expressões isoladas de RE, RP, HER2 e Ki67. Na comparação das médias e medianas das quimiocinas entre os níveis das variáveis RE e RP isoladamente não se encontrou correlação destes dois receptores hormonais com as quimiocinas ( $p > 0,05$ ).

Na comparação das médias e medianas das quimiocinas entre os níveis da variável Ki67 encontrou-se uma correlação significativa e positiva com as quimiocinas Eotaxina/CCL11 (Spearman +0,2521;  $p = 0,048$ ) e MCP1/CCL2 (Spearman +0,2647;  $p = 0,036$ ), sendo que quanto maior a expressão da variável Ki67, maior o nível dessas quimiocinas e vice-versa. Quando se analisou a correlação entre a quimiocina TARC/CCL17 e o Ki67 positivo ou negativo não se encontrou correlação significativa (Spearman +0,2406;  $p = 0,0575$ ), mas na estratificação do Ki67 no valor de corte de 14% encontrou-se que as pacientes com Ki67 > 14% apresentam maiores níveis da quimiocina TARC/CCL17 (Spearman +0,2977;  $p = 0,007$ ) do que aquelas com Ki67 menor ou igual a 14% (Tabela 9). Não se encontrou correlação entre Ki67 e as demais quimiocinas e citocinas ( $p > 0,05$ ).

Na comparação das médias e medianas das quimiocinas entre os níveis de p53 encontrou-se que pacientes com p53 positivo também apresentam maiores níveis da quimiocina TARC/CCL17 (Spearman +0,2987;  $p = 0,0216$ ). Não se encontrou correlação entre p53 e as demais quimiocinas e citocinas ( $p > 0,05$ ).

Na comparação das médias e medianas das quimiocinas nas pacientes com HER2 amplificado/superexpresso houve maiores níveis das citocinas IL-6 (Spearman +0,2688;  $p = 0,0215$ ) e IL-10 (Spearman +0,3781;  $p = 0,0010$ ). Não encontramos correlação entre HER2 e as demais quimiocinas e citocinas ( $p > 0,05$ ) (Tabela 9).

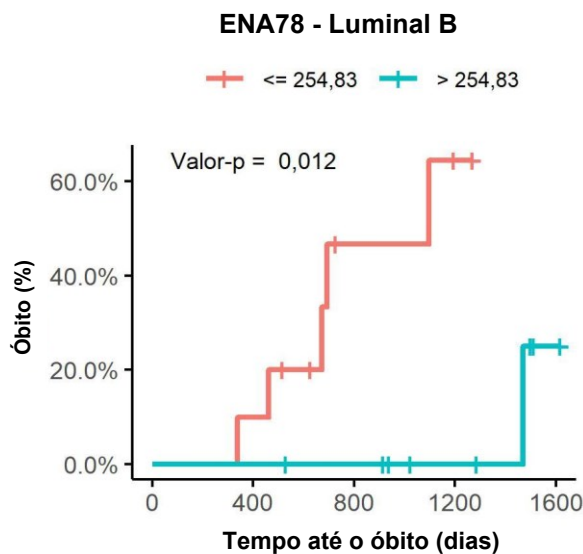
**Tabela 9.** Correlações patológicas e dos biomarcadores celulares tumorais com as concentrações séricas das quimiocinas e citocinas.

	<b>Ki67</b>	<b>p53</b>	<b>HER2+</b>	<b>Infiltrado peritumoral</b>
<b>Eotaxina/ CCL11</b>	Spearman +0,2521; p = 0,048	NS	NS	NS
<b>MCP1/ CCL2</b>	Spearman +0,2647; p = 0,036	NS	NS	Spearman +0,4726; p = 0,0197
<b>TARC/ CCL17</b>	Ki 67 > vs ≤14% Spearman +0,2977; p = 0,007	Spearman +0,2987; p = 0,0216	NS	NS
<b>GroAlfa/ CXCL1</b>	NS	NS	NS	Spearman +0,4478; p = 0,0321
<b>IL-6</b>	NS	NS	Spearman +0,2688; p = 0,0215	NS
<b>IL-10</b>	NS	NS	Spearman +0,3781; p = 0,0010	NS

Legenda: NS = não significativo.

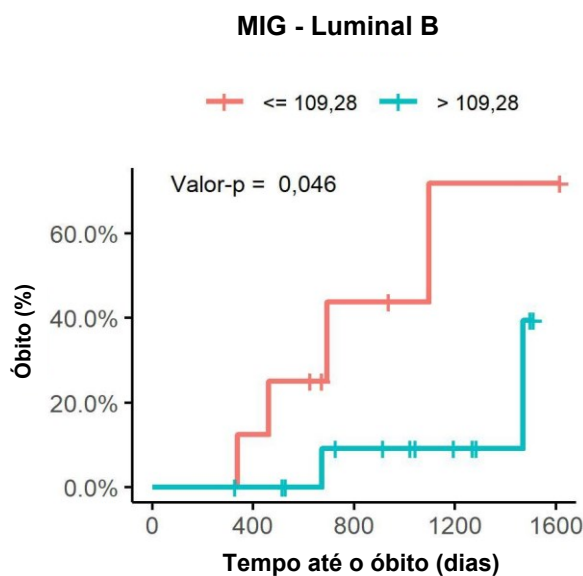
#### 5.4.7 Subtipos moleculares pela IH e correlações com quimiocinas e citocinas

Foram analisadas quimiocinas e citocinas de 81 pacientes, sendo 19 portadoras de tumores Luminal A, 32 Luminal B, 13 HER2+ e 17 TN. Na comparação das médias e medianas das quimiocinas notou-se que pacientes com tumores Luminais B apresentaram maiores níveis da quimiocina TARC/CCL17 ( $p = 0,009$ ), em relação aos subtipos Luminal A, HER2+ e TN, mas tal correlação não impactou na SG ( $p > 0,05$ ). Mas entre as mulheres com tumor Luminal B e a quimiocina ENA78/CXCL5 notou-se que naquelas pacientes com valores abaixo da mediana de 254,83 pg/ml da ENA78/CXCL5 houve maior risco de morte quando comparadas às pacientes com valores acima desta mediana (Log-Rank  $p = 0,012$ ) (Figura 5). Não se encontrou maior ou menor risco de morte conforme a expressão de ENA78/CXCL5 nos outros subtipos tumorais (Luminal A,  $p = 0,237$ ; HER2+,  $p = 1,000$ ; TN,  $p = 0,249$ ).



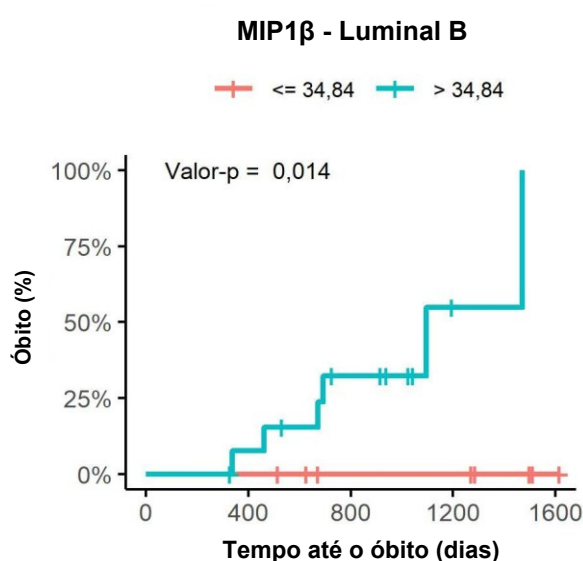
**Figura 5.** Risco de óbito nas pacientes com câncer de mama Luminal B conforme a expressão de ENA78/CXCL5 (n = 19 pacientes; Log-Rank p = 0,012).

Outra quimiocina que também modificou a sobrevida global das pacientes com câncer de mama Luminal B foi a MIG/CXCL9, com diferenças significativas (Log-Rank p = 0,046). As pacientes com valores abaixo da mediana de 109,28 pg/ml de MIG/CXCL9 apresentaram maior risco de morte quando comparadas às pacientes com os valores desta quimiocina acima desta mediana (Figura 6). Tal correlação não foi vista nos demais subtipos tumorais (Luminal A, p = 0,355; HER2+, p = 1,000; TN, p = 0,222).



**Figura 6.** Risco de óbito nas pacientes com câncer de mama Luminal B conforme a expressão de MIG/CXCL9 (n = 22 pacientes; Log-Rank p = 0,046).

Nas pacientes com tumores do subtipo Luminal B houve maior risco de morte conforme a expressão da quimiocina MIP1 $\beta$ /CCL4. Houve diferença significativa (Log-Rank  $p = 0,014$ ) com maior risco de morte para as pacientes com valores acima da mediana de 34,84 pg/ml quando comparadas às pacientes com valores abaixo da mediana desta quimiocina (Figura 7). Os demais subtipos tumorais não apresentaram esta correlação com MIP1 $\beta$ /CCL4 (Luminal A,  $p = 0,317$ ; HER2+,  $p = 1,000$ ; TN,  $p = 0,144$ ).



**Figura 7.** Risco de óbito nas pacientes com câncer de mama Luminal B conforme a expressão de MIP1 $\beta$ /CCL4 (n = 22 pacientes; Log-Rank  $p = 0,014$ ).

Outra citocina que influenciou a SG, mas nos tumores TN, foi a IL-6 (Log-Rank  $p = 0,026$ ), sendo que as pacientes com valores acima da mediana de 5,56 pg/ml apresentaram maior risco de morte quando comparadas às pacientes abaixo dessa mediana. A IL-6 não influenciou a SG nos outros subtipos tumorais classificados pela IH.

### 5.5 Análise pela IH do escore inflamatório (células T CD4, T CD8 e Treg FOXP3) no microambiente tumoral e suas correlações

O escore imunológico foi mensurado pela expressão de Linfócitos T CD4, T CD8 e T FOXP3 no infiltrado inflamatório em 85 espécimes tumorais, realizado pelo método de TMA (21 pacientes Luminal A, 34 Luminal B, 12 HER2+ e 18 TN). Considerando a positividade como igual ou maior que 1% encontrou-se 70 (82,3%) espécimes tumorais positivos para célula T CD4. A positividade para células T CD8 foi encontrada em 76 (89,5%) espécimes. A positividade para

as células T FOXP3 foi encontrada em 53 (62,4%) espécimes. Houve correlação entre o T CD8 e o T CD4 (Spearman +0,5991;  $p = 0,0000$ ), entre T CD4 e o FOXP3 (Spearman +0,3735;  $p = 0,0011$ ) e entre T CD8 e o FOXP3+ (Spearman +0,2753;  $p = 0,0176$ ) no microambiente tumoral (Tabela 10).

Notou-se correlação inversa e significativa entre células T FOXP3+ e RE+ (Spearman -0,2922;  $p = 0,0085$ ). Pacientes com FOXP3 negativo apresentaram níveis positivos de RE em 92,0% dos casos, demonstrando uma correlação inversa. Tal correlação de FOXP3 não foi significativa com o RP (Spearman -0,1907;  $p = 0,0902$ ). Houve uma correlação significativa e direta com o Ki67 com esta célula T (Spearman +0,2398;  $p = 0,0322$ ) (Tabela 10).

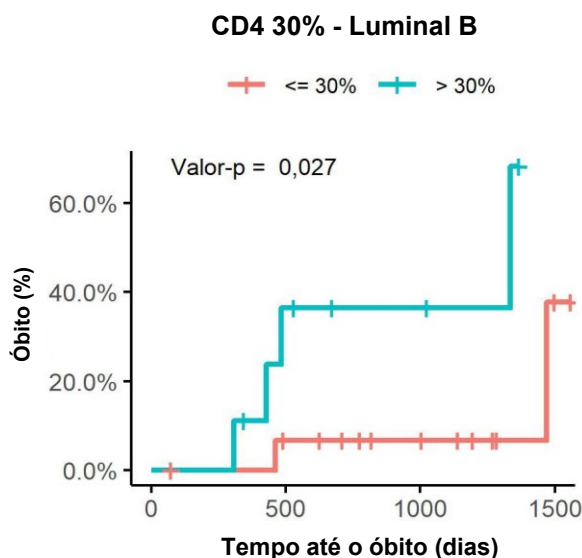
**Tabela 10.** Análise do escore inflamatório (células T CD4, T CD8 e T FOXP3) mensurados pela IH no microambiente tumoral e suas correlações.

	<b>T CD4</b>	<b>T CD8</b>	<b>T FOXP3</b>
<b>T CD4</b>		Spearman +0,5991; $p = 0,0000$	Spearman +0,3735; $p = 0,0011$
<b>T CD8</b>	Spearman +0,5991; $p = 0,0000$		Spearman +0,2753; $p = 0,0176$
<b>RE</b>	<i>NS</i>	<i>NS</i>	Spearman -0,2922; $p = 0,0085$
<b>RP</b>	<i>NS</i>	<i>NS</i>	Spearman -0,1907; $p = 0,0902$ (ns)
<b>Ki67</b>	<i>NS</i>	<i>NS</i>	Spearman +0,2398; $p = 0,0322$

Legenda: RE = receptor de estrogênio; RP: receptor de progesterona; NS: não significativo.

As perdas de partes dos espécimes tumorais para a montagem do TMA impossibilitaram a maioria das análises estatísticas de correlações entre o tipo de células inflamatórias do TME e as quimiocinas e citocinas. Dos 116 casos selecionados para análise do TME houve exclusão de 31, sendo elegíveis 85, mas que não coincidiram plenamente com os 81 pacientes com expressão de quimiocinas e citocinas séricas. Assim, não se encontrou correlação significativa entre os Linfócitos T CD4 e T CD8 e as citocinas e quimiocinas. Houve correlação inversa e significativa apenas dos Linfócitos T FOXP3 com a IL-6 (Spearman -0,4844;  $p = 0,0015$ ).

Encontrou-se diferença significativa na SG conforme a expressão de células inflamatórias infiltrando o TME nas pacientes com tumores de mama Luminal B. Na análise da expressão de células T CD4+, estratificado em mais de 30,0%, houve diferença significativa (Log-Rank  $p = 0,027$ ) na sobrevida. Dentre as pacientes com expressão de células T CD4+ aquelas com nível acima de 30,0% apresentaram um maior risco de morte quando comparadas às pacientes com nível de Linfócitos T CD4+ igual ou menor que 30,0% (Figura 8). Não houve tal significância nos demais subtipos tumorais (Luminal A,  $p = 0,505$ ; HER2+,  $p = 1,000$ ; TN,  $p = 0,227$ ).



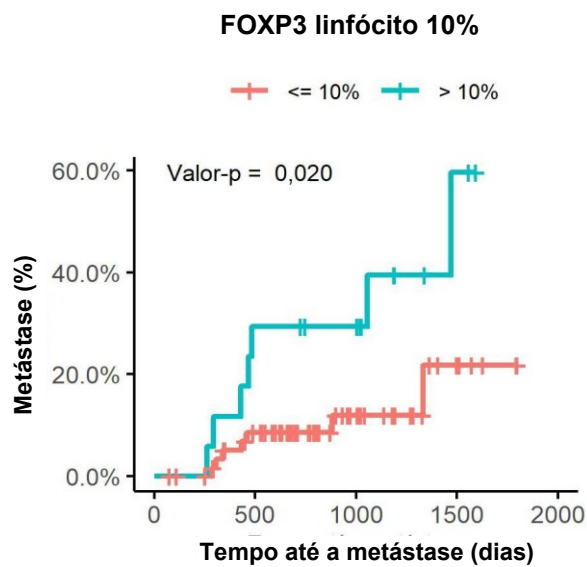
**Figura 8.** Risco de óbito nas pacientes com câncer de mama Luminal B conforme a expressão de Linfócitos T CD4+ (n = 25 pacientes; Log-Rank  $p = 0,027$ ).

Também nas pacientes com tumores de mama Luminal B quando a somatória da positividade de infiltração de Linfócitos T CD4 e T CD8 estava acima de 75,0% no TME, percebeu-se diferença significativa na SG (Log-Rank  $p = 0,033$ ), com maior risco de morte quando comparadas às pacientes com nível igual ou menor que 75,0%. Tal relação de SG não foi percebida nos demais subtipos tumorais (Luminal A,  $p = 0,398$ ; HER2+,  $p = 1,000$ ; TN,  $p = 0,454$ ). Nenhuma expressão de Linfócitos T CD8 isoladamente impactou na SG ( $p = >0,05$ ).

Na análise de todos os subtipos tumorais pela IH, e não apenas do Luminal B, houve correlação positiva entre a presença de Linfócitos FOXP3+ no infiltrado tumoral e o aumento do risco de metástases (Spearman 0,2355;  $p = 0,0355$ ). Na análise de sobrevida entre aquelas pacientes FOXP3+ detectou-se que na presença de mais de 10,0% de Linfócitos T FOXP3+ no



infiltrado tumoral houve diferença significativa na SLD (Log-Rank  $p = 0,020$ ), com maior risco de metástase quando comparadas às pacientes com positividade para FOXP3, mas com valores abaixo de 10,0% (Figura 9).



**Figura 9.** Risco de metástases a distância para as pacientes com câncer de mama e expressão de Linfócitos T FOXP3+ (n = 53 pacientes; Log-Rank  $p = 0,020$ ).

## 6. DISCUSSÃO

Esse estudo prospectivo analisou as características clínicas e patológicas de pacientes com câncer de mama, e suas correlações com os Leucócitos periféricos, com a expressão de quimiocinas e citocinas séricas, e a infiltração de células inflamatórias no TME.

### 6.1 Caracterização das pacientes e sobrevidas conforme os subtipos pela IH e pelo estadiamento

O estadiamento TNM e a IH são fundamentais para o adequado tratamento das pacientes com câncer de mama. Confirmou-se neste estudo que estas duas estratificações são prognósticas, em concordância com dados da literatura (BURSTEIN, 2020; CARDOSO *et al.*, 2018; CARDOSO *et al.*, 2019; HORTOBAGYI *et al.*, 2017; SALI *et al.*, 2020). Demonstrou-se, portanto, que diferentes pacientes quando agrupadas adequadamente, apresentam um padrão na sobrevida, replicada em outras populações. A gravidade da doença piorou com a progressão da dimensão da neoplasia, com a sobrevida cada vez menor, conforme a expansão da carga tumoral de cada paciente, de acordo com outros estudos (ARAÚJO *et al.*, 2021; ESCOBAR *et al.*, 2007; GRABAU *et al.*, 1998).

Nos subtipos determinados pela IH demonstrou-se maior tempo de sobrevida para as pacientes com tumores Luminal A, seguido daquelas com tumores HER2+. No subgrupo Luminal A se confirmou o bom prognóstico desta população (MOHAMMED, 2021b), que recebeu tratamento local adequado e terapias direcionadas como a endocrinoterapia, e de anticorpos monoclonais naquelas HER2+ (BECERRA-CHAUCA; NIETO-GUTIERREZ; TAYPE-RONDAN, 2022; Da LUZ *et al.*, 2022). E a ausência de um tratamento específico, como nas TN, impactou negativamente, com a menor sobrevida, confirmando o mau prognóstico desse subgrupo (LIAN *et al.*, 2021; LOMBARDI *et al.*, 2020).

As pacientes com tumores Luminal B apresentaram menor sobrevida do que as Luminal A e HER2+. É fundamental a análise criteriosa da expressão do Ki67 e dos receptores hormonais, pela IH, para diferenciar o Luminal A do Luminal B (MOHAMMED, 2021a), sendo o ideal a análise quantitativa. Pacientes com Ki67 < 14% são considerados de menor agressividade, Luminal A, do que aquelas que expressam este biomarcador  $\geq 14\%$ , de maior agressividade, Luminal B (HAO, J. *et al.*, 2021). Esse corte de 14% foi adotado nessa casuística. Tal diferenciação entre Luminal A e B é muito relevante para determinar prognóstico e o tempo de tratamento adjuvante (YU *et al.*, 2019).

Dentre as pacientes com tumores do subtipo Luminal B é mandatório identificar os diversos graus de agressividade para oferecer as melhores opções terapêuticas (GONÇALVES *et al.*, 2021). A expressão de RE+ menor que 10% e de Ki67 maior que 30% indicaria muito pior prognóstico (DING *et al.*, 2019; PAN *et al.*, 2019), com maior risco de recidiva e morte, sendo indicado, além da endocrinoterapia, outras terapias sistêmicas (CANCELLO *et al.*, 2013). A resposta terapêutica ao bloqueio hormonal desse subgrupo Luminal B é irregular, sendo desejável maior estratificação de risco (ADES *et al.*, 2014; CHEANG *et al.*, 2009).

As mulheres com neoplasias Luminais B embora expressem biomarcadores adequados, RE e/ou RP, para o bloqueio ou modulação do receptor específico, muitas vezes se comportam como os tumores TN, sabidamente de péssimo prognóstico pela ausência de marcadores preditivos (LI *et al.*, 2022). O tumor Luminal B apresenta uma resposta ruim à terapia anti-hormonal, embora receba a mesma endocrinoterapia eficazmente usada no Luminal A. Mas sabe-se que pacientes com neoplasia Luminal B apresentam mais risco de recidiva local e metástases ósseas, no período de 2 a 5 anos, e também após 5 anos, em comparação às pacientes com câncer de mama não Luminal, devido às expressões genéticas distintas que predisõem à metástases tardiamente (LI *et al.*, 2016).

Há uma forte tendência de agregar a análise genética para avaliar risco e prognóstico nas pacientes com câncer de mama (WOODWARD *et al.*, 2020), mas tal prática ainda não é universalizada pelo alto custo. Há necessidade de novos biomarcadores de prognóstico no câncer de mama, principalmente nos tumores Luminal B e TN, mas que sejam replicáveis e de menor custo, com melhora dos escores de prognóstico, permitindo o adequado tratamento a cada paciente, minimizando seu risco de recidiva ou de morte (SELLA *et al.*, 2021). Assim desenhou-se esse estudo, para analisar também o que circunda essa neoplasia, dimensionando parte das células inflamatórias do TME, dos Leucócitos periféricos e das citocinas e quimiocinas séricas, mensurando suas correlações com as características clínicas e patológicas dessas pacientes com câncer de mama.

## **6.2 Correlações entre as concentrações das quimiocinas (pg/ml)**

Algumas limitações metodológicas podem comprometer os achados apresentados. A análise de quimiocinas dessas mulheres foi um retrato daquele momento, e provavelmente detectar-se-ia diferentes expressões se a coleta de sangue tivesse sido realizada, por exemplo, no mês seguinte. Não se fez coletas múltiplas conforme a evolução de cada paciente, o que poderia retratar mais fielmente o perfil de secreção de cada quimiocina. Ressalta-se ainda que a produção dessas proteínas é dependente de outras doenças da mama, como proliferação

epitelial ou atípicas e não apenas neoplasia (WANG *et al.*, 2013). Nos tumores de mama das pacientes analisadas nessa casuística, necessariamente a área tumoral de interesse não se apresentou apenas como carcinoma invasor isolado, mas também com concomitância de proliferação epitelial, atípicas e/ou carcinoma *in situ*.

Outro fator que dificulta a interpretação dos dados desse estudo é que usualmente a hipoeexpressão ou a hiperexpressão de uma quimiocina nunca é isolada, dependente de genes indutores localizados em *loci* cromossômicos próximos. Analisou-se nessa série 13 quimiocinas, de um total de 48 conhecidas. Portanto, o biomarcador de interesse pode estar hipoeexpresso ou hiperexpresso, a depender da modulação de outras proteínas além das 13 estudadas. Das 6 CXC-quimiocinas analisadas os comandos genéticos de 3 delas estão no *locus* 4q13.3, e as outras 3 no *locus* 4q21.1. Das outras 7 CC-quimiocinas, 3 estão no *locus* 17q11.2, outras 2 no *locus* 17q12, uma no 16q13, e a outra no 2p36.3 (ALI; LAZENNEC, 2007). Tentou-se a diversidade de *loci* indutores na tentativa de analisar comandos diferentes, evitando que um único *locus* sinalizador induzisse a expressão de múltiplas quimiocinas.

Outro possível viés encontrado poderia estar relacionado a etnia, uma vez que tal definição é por auto declaração no Brasil. Portanto, esses resultados são sobre mulheres brasileiras, miscigenadas, com definição étnica subjetiva. Sabe-se que em determinadas populações é possível perceber maiores riscos na incidência e diferentes prognósticos de câncer de mama conforme a etnia (ACHEAMPONG *et al.*, 2020; BANDERA *et al.*, 2021; HUO *et al.*, 2017; KEENAN *et al.*, 2015; WARNER *et al.*, 2015), sendo acompanhado de diferentes expressões de quimiocinas a depender do grupo étnico da paciente (THOMAS *et al.*, 2019).

Dentre as 234 pacientes com diagnóstico de CI de mama, devido à restrição orçamentária, selecionou-se equitativamente, entre os diversos subtipos pela IH, um terço dessas mulheres para análise de quimiocinas e citocinas séricas (81 pacientes). Foi utilizado o método multiplex Legendplex (BioLegend®), com painel de 13 quimiocinas humanas e outro *kit* para detecção de 3 citocinas inflamatórias. Este painel de ensaio, validado pela mensuração nas mudanças esperadas em amostras biológicas, pode fornecer sensibilidade de detecção tão ampla como os métodos tradicionais (DABITAO *et al.*, 2011; ELSHAL; McCOY, 2006), mas com menor custo.

Tal método de detecção dessas diversas quimiocinas presentes no soro de pessoas saudáveis ou doentes pode ser aplicado para análise em várias áreas biológicas (MORGAN *et al.*, 2004). Sua aplicabilidade se estende das pesquisas na veterinária (WYNS *et al.*, 2013), às pesquisas em seres humanos, como no câncer de cabeça e pescoço (BYERS *et al.*, 2010; WEIDHAAS *et al.*, 2017), no câncer gástrico (ZHAO *et al.*, 2019), no melanoma (LANG *et al.*,

2011), ou nas doenças hematológicas (TANG *et al.*, 2011). O método multiplex permitiu a análise das 16 proteínas neste estudo e pode ser replicado.

Confirmou-se, nessa casuística, que as CC-quimiocinas se correlacionaram entre si, tal qual as CXC-quimiocinas, e a maioria delas, nas duas famílias, também apresentaram correlações significativas entre si, como já demonstrado em outros estudos no câncer de mama (WANG *et al.*, 2013; WANG, F. *et al.*, 2021), em outros tumores (De La FUENTE LÓPEZ *et al.*, 2018; WANG, J. *et al.*, 2021) e outras doenças não neoplásicas (GARCÍA-VELASCO; ARICI, 1999; HAO, W. *et al.*, 2021; PENG *et al.*, 2021). A dificuldade que se impõem é determinar como, quando, e em que concentração, serão secretadas uma, duas, três ou dezenas de quimiocinas, às vezes simultaneamente. Com certeza quando se compreender como esta “orquestra” de quimiocinas é afinada, haverá maior entendimento na evolução e prognóstico de muitas enfermidades, dentre elas o câncer (MARCUIZZI *et al.*, 2018).

Constatou-se a multiplicidade dessa secreção de quimiocinas nas pacientes desta série. Uma sinalização genética única explicaria esta correlação tão ampla, mas o comando genético das expressões dessas quimiocinas foi diversificado. Dentre todos os pares de cromossomos, 14 pares expressam *loci* para a produção de algumas dessas proteínas e dos seus receptores. Os cromossomos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 16, 17, 19 e o X induzem estas sínteses, com destaque para o cromossomo 3 (grande parte dos receptores), o cromossomo 4 (grande parte da família CXC), e o 17 (grande parte da família CC). Com esta diversidade de comando genético esperava-se correlações entre elas, mas não tão abrangente. Das 13 quimiocinas aqui analisadas apenas 3 delas - ENA78/CXCL5/ Cromossomo 4, TARC/CCL17/ Cromossomo 16, MIP3 $\alpha$ /CCL20/ Cromossomo 2 - apresentaram baixa ou nenhuma correlação. As demais CXC-quimiocinas (CXCL1, 8, 9, 10 e 11) sinalizadas pelo cromossomo 4, e as CC-quimiocinas (CCL2, 3, 4, 5 e 11) sinalizadas pelo cromossomo 17, se correlacionaram significativamente entre si (BIÈCHE *et al.*, 2007; ZLOTNIK; YOSHIE, 2012).

Além das correlações múltiplas dessas quimiocinas analisadas, centenas de doenças não oncológicas correlacionam-se com as quimiocinas, conforme relatado nas Tabelas Suplementares 1 e 2 desse estudo. A concomitância de transtornos, como por exemplo, o distúrbio do sono, não mensurados nessas pacientes com neoplasia de mama, pode ter sido um viés na análise das quimiocinas. Em modelo de camundongo, com tumorigênese mamária espontânea, submetidos a ruptura circadiana crônica, houve progressão da neoplasia, com TME mais imunossupressor, com algumas proteínas hipo-reguladas, como IFN- $\gamma$ , CXCL13, TNF e GroAlfa/CXCL1 e outras hiper-reguladas, como CXCL3, CXCL5, IL-10 e IL-1B (HADADI *et al.*, 2020).

Dentre as 81 pacientes que se submeteram à análise sérica das quimiocinas e citocinas, provavelmente, muitas apresentaram outras anormalidades não mensuradas no processo seletivo desse estudo, como a ansiedade e a depressão, inerente ao diagnóstico de um câncer, às vezes bem sutis, mas capazes de alterar a expressão destas proteínas sinalizadoras de inflamação. No processo seletivo dos casos excluiu-se poucas pacientes com doenças inflamatórias articulares, da pele ou intestinais, além de postergar a coleta do sangue em 14 dias, no mínimo, após a biopsia incisional, na tentativa de minimizar o viés inflamatório da ferida cirúrgica. Provavelmente essas possíveis interferências não comprometeram os resultados desse estudo, uma vez que as pacientes com câncer de mama apresentaram grande diversidade de expressão de quimiocinas, com significância estatística que indicaram, provavelmente, mudanças prognósticas.

### **6.3 Correlações da expressão das células sanguíneas periféricas**

Demonstrou-se nessa série uma correlação positiva entre o número absoluto de Leucócitos periféricos do primeiro hemograma, colhido antes do tratamento, e a expressão de IL-6 sérica, confirmando a dependência de maior expressão desta citocina com maior valor de Leucócitos (HUANG *et al.*, 2017; MIANJI *et al.*, 1996). As quimiocinas são reguladoras do tráfico de Leucócitos, e esperava-se nesse estudo, uma correlação direta e forte entre a expressão de grande parte das 13 quimiocinas analisadas e a leucocitose periférica. Mas esta correlação foi fraca. Sabe-se que esta premissa tem exceções, como a possibilidade de sequestro acentuado e internalização de quimiocinas, tornando sua mensuração mais difícil, ou a possível dependência com as outras 35 quimiocinas, não mensuradas nessa série, para a maior expressão dos Leucócitos (THELEN; STEIN, 2008).

Observou-se uma correlação inversa de duas quimiocinas, Rantes/CCL5 e GroAlfa/CXCL1, com o número de Leucócitos periféricos no primeiro hemograma. Esperava-se uma correlação direta e não inversa. Para elucidar tal resultado haveria necessidade de analisar a capacidade da Rantes/CCL5 de formar oligômeros, dependente de GAG, que é uma condição essencial para o recrutamento de Leucócitos, além de quantificar a expressão endotelial dos receptores CCR1 e CCR5 (BALTUS *et al.*, 2003). Mas tais expressões não foram mensuradas, dificultando a análise dessa sinalização.

Em relação a GroAlfa/CXCL1 sabe-se que a expressão de Leucócitos é dependente da capacidade desta quimiocina em formar dímeros com a CXCL2, e a expressão de ambas quimiocinas seria necessário para induzir o aumento e migração destas células (SAWANT *et al.*,

2021). Mas não foi analisada a expressão da CXCL2 nessa casuística. Não há relatos, na literatura, da correlação inversa de Rantes/CCL5 e GroAlfa/CXCL1 com os Leucócitos, explicitamente em pacientes com câncer de mama. Fica, então, o primeiro registro dessa correlação inversa, aguardando novas análises que confirmem ou contradigam esses resultados.

Encontrou-se também uma correlação inversa entre os Linfócitos e a MCP1/CCL2. Esperava-se que esta quimiocina se correlacionasse com os granulócitos, principalmente os Monócitos. Foi demonstrado, por outros autores, que em cultura de Neutrófilos houve hiperexpressão, significativa, de MCP1/CCL2 e outras citocinas após o tratamento desta cultura com sobrenadante derivado de células de câncer de mama (WU, L. *et al.*, 2020). Mas a MCP1/CCL2, potente na atração de Monócitos, é idêntica ao fator quimiotático derivado de Linfócitos (*lymphocyte-derived chemotactic factor*; LDCF), podendo atrair tanto Monócitos quanto Linfócitos (YOSHIMURA, 2018). Mas esta correlação deveria ser positiva, e não negativa, como encontrado, exceto se houvesse mutações no gene CCL2 que reduziria seu potencial de quimiotaxia (YAO; TSIRKA, 2010; ZHANG; ERNST; ROLLINS, 1996). Não foi realizada a análise destas possíveis mutações. Portanto, nesta correlação o achado desse estudo é discordante da literatura.

Os Monócitos, por sua vez, se correlacionaram positivamente com a IP10/CXCL10 nessas pacientes com câncer de mama. A correlação positiva entre Monócitos e IP10/CXCL10 já foi descrita na asma e nas alergias (QI *et al.*, 2009), na esclerose múltipla (BONECHI *et al.*, 2014), na malária (IOANNIDIS; ERIKSSON; HANSEN, 2020) ou na leishmaniose mucocutânea (VARGAS-INCHAUSTEGUI *et al.*, 2010), mas não em pacientes com câncer de mama. Portanto, este seria o primeiro relato da correlação entre monocitose e IP10/CXCL10 nas pacientes com câncer de mama, indicando hipóteses para futuras pesquisas na disseminação e progressão do câncer de mama.

Encontrou-se correlação da razão de Neutrófilos/Linfócitos (NLR) em duas situações. A primeira foi na análise de SG um subgrupo de pacientes com tumores de mama Luminal B apresentou o valor da NLR acima de 2, no primeiro hemograma, implicando em maior e significativo risco de óbito, quando comparadas ao outro subgrupo Luminal B com o valor da NLR menor ou igual a 2. A segunda foi na análise dos 178 pacientes que colheram hemogramas consecutivamente. Aquelas com NLR >3, no terceiro hemograma apresentaram menor SG.

A baixa expressão de granulócitos e alta de Linfócitos, com NLR baixa, parece inferir um melhor prognóstico. Já houve relato dessa correlação significativa em outras pacientes com câncer de mama (ORDITURA *et al.*, 2016), ou especificamente no subgrupo de mulheres com tumores TN (TOKUMARU *et al.*, 2021). Mas há contradição do valor prognóstico da NLR como encontrado em outra série retrospectiva em mulheres com câncer de mama. O hemograma

colhido antes da quimioterapia neoadjuvante demonstrou, naquelas com tumores Luminais, um maior risco de recorrência se a NLR fosse menor que 2,12 (GRASSADONIA *et al.*, 2021). Confirma-se, portanto, a necessidade de mais pesquisa, com populações mais homogêneas de tumores de mama, preferencialmente analisando esta correlação nos diversos subtipos pela IH, para melhor avaliação do valor da NLR pré-tratamento.

Outra correlação da NLR foi encontrada posteriormente ao tratamento em 178 pacientes, e detectou no subgrupo com maior valor da NLR do terceiro hemograma uma menor SG. A persistência de NLR alto após o tratamento com pior desfecho das pacientes já foi replicado em outras pacientes com câncer de mama já tratadas, em seguimento de 5 anos, sendo que aquelas com NLR alto (acima de 2,18) apresentaram significativamente mais recidivas (MOON *et al.*, 2020). Portanto, sugere-se que esta razão pode avaliar o risco de óbitos, ou recidivas, durante o seguimento mais tardio.

Sugere-se que a análise semestral de um simples hemograma pode prever a evolução das pacientes. Em termos práticos seria indicado ficar mais vigilante naquelas pacientes que após o tratamento apresentem níveis crescentes de granulócitos e/ou níveis decrescentes de Linfócitos. Em outros tipos de tumores, como em pacientes com câncer de reto, em tratamento neoadjuvante, a contagem de Neutrófilos e Monócitos persistentemente mais baixa implicou, significativamente, em maior resposta patológica completa (LEE, Y. *et al.*, 2018).

A NLR alta de um hemograma ao diagnóstico do câncer de mama pode ser o reflexo da “tempestade de quimiocinas”, indicando pior evolução. A alta expressão de Neutrófilos indicaria provável colaboração destes granulócitos para a progressão tumoral, e a baixa expressão de Linfócitos demonstraria a precariedade de células citotóxicas, antitumorais, demonstrando simplisticamente a imuno-incompetência. No acompanhamento com a NLR a partir de um ano após o término do tratamento, a alta expressão de Neutrófilos e/ou baixa de Linfócitos indicaria a persistência da imuno-incompetência, mesmo após o tratamento. Mas tal premissa precisa ser mais replicada.

#### **6.4 Análise das características clínicas e patológicas entre si e com as concentrações séricas das quimiocinas, citocinas**

##### *6.4.1. Estadiamento*

Na análise da extensão do tumor, mensurados como T1, T2, T3 e T4, notou-se correlação positiva e significativa com biomarcadores de mau prognóstico, como tumores indiferenciados, a hiperexpressão de HER2+ e do Ki67. Já foi demonstrado que os cânceres de mama menos



diferenciados evoluem mais agressivamente (MOHAMMED *et al.*, 1986). Tanto o Ki67 (NIELSEN *et al.*, 2021) quanto o HER2, quando hiperexpressos, indicam tumores de maior agressividade e de pior prognóstico (DUFFY *et al.*, 2017). Confirmou-se, portanto, que tumores primários da mama mais avançados expressam mais intensamente estes biomarcadores de pior prognóstico.

Realizou-se outra análise mais ampla do volume tumoral, pelo estadiamento TNM (estádios I, II, III e IV). As pacientes do estádio IV apresentaram baixa expressão de TNF- $\alpha$  e de IL-10. O TNF- $\alpha$  baixo implicou maior risco de morte, mas a hipoexpressão da IL-10 não. Nas correlações com o TNF- $\alpha$  há discordâncias na literatura. Estudo com células-tronco mesenquimais expostas ao TNF- $\alpha$  propiciou maior locomoção de células de câncer de mama (SHIN *et al.*, 2010). O TNF- $\alpha$  expresso no TME de pacientes com câncer de mama induziu à EMT e metástases (CRUCERIU *et al.*, 2020). Mas em camundongos com câncer de mama a disseminação de células cancerosas para o pulmão ocorreu na hipoexpressão de TNF- $\alpha$  e outras citocinas (HADADI *et al.*, 2020). Há inúmeros polimorfismos, como o TNF- $\alpha$ -308, com diferentes correlações com a SG (KORBEINIKOVA *et al.*, 2015), mas em meta-análise não encontrou correlação dos diversos SNP do TNF- $\alpha$  com o risco de câncer de mama, e um dos polimorfismos mostrou correlação negativa (YANG *et al.*, 2011). Entende-se que são várias isoformas do TNF- $\alpha$  com inúmeras sinalizações.

Estudo com a IL-10 em pacientes com tumores de mama, estádios I e II, também demonstrou vários SNP desta citocina, mas nenhuma com valor prognóstico (KORBEINIKOVA *et al.*, 2015). Persiste muita inconsistência na correlação da IL-10 e a susceptibilidade ao câncer de mama, sugerindo que algum dos polimorfismos poderia estar relacionado à carcinogênese da mama (MOGHIMI *et al.*, 2018). Essa série encontrou correlação desta citocina com as pacientes do estádio IV, mas também sem impacto na sobrevida. Futuros estudos com a identificação dos diversos SNP são necessários para estabelecer a correlação entre a IL-10 e o câncer de mama.

Na análise do comprometimento dos linfonodos axilares pelas células tumorais demonstrou-se uma correlação positiva e significativa com o RE e o RP, replicado em outra série também com mulheres com câncer de mama (KUSTIC *et al.*, 2019). No subtipo TN há menor incidência de envolvimento nodal axilar (CRABB *et al.*, 2008), e mais metástases viscerais por via hematogênica (KIM; KIM; KIM, 2018). Mas a capacidade em prever a positividade de linfonodos axilares conforme os subtipos pela IH não mostrou diferença em outra casuística (WU *et al.*, 2014). Em geral, os tumores RH+ tendem a menor expressão hormonal nas metástases sincrônicas para o linfonodo axilar (KINOE *et al.*, 2018), e a perda da expressão do RH, ou o aumento do índice do Ki67, nas metástases linfonodais parecem estar associados ao pior prognóstico (YAMANOUCHI; KUBA; EGUCHI, 2020).

Nas pacientes dessa casuística com comprometimento de gânglios linfáticos axilares (categoria N1+N2+N3) ocorreu maior expressão de TNF- $\alpha$  sérico em comparação com aquelas com linfonodos axilares negativos (categoria N0), com significância estatística. Esse resultado foi replicado em outra população de pacientes com câncer de mama (MA *et al.*, 2017). Sabe-se que os fatores de necrose tumoral são necessários na remodelação dos linfonodos (ZHU; FU, 2011) e a co-expressão de IL-6 e TNF- $\alpha$  induzem envolvimento tumoral de mais de 3 gânglios axilares (TRIPSANIS *et al.*, 2014), mas inúmeras outras citocinas colaboram nesta disseminação (AUTENSHLYUS *et al.*, 2020). Interessantemente, uma série mostrou que os Leucócitos isolados dos linfonodos axilares comprometidos secretam de 2 a 5 vezes mais citocinas do que os Leucócitos isolados dos linfonodos sem neoplasia (ELGHONAIMY *et al.*, 2016). Parece haver mais consistência na literatura sobre a correlação do TNF- $\alpha$  com os linfonodos axilares do que com os tumores primários na mama.

#### 6.4.2. Idade

Houve correlação significativa, e inversa, da idade das pacientes com a expressão do Ki67. Quanto menor a idade maior foi a expressão deste marcador de agressividade tumoral, em concordância com outras séries de pacientes com câncer de mama (BOCCHI *et al.*, 2021; De GREGORIO *et al.*, 2021; SALI *et al.*, 2020).

A idade, por si só, é o principal fator de risco para o desenvolvimento do câncer de mama (KRESOVICH *et al.*, 2019), mas há contribuição de mais de 1.600 genes colaboradores desta carcinogênese, sendo 35 deles altamente expressos, e 14 genes estão relacionados às sinalizações de quimiocinas ou aos seus receptores (YI; ZHOU, 2020).

Outra correlação significativa da idade nas pacientes desse estudo foi com a expressão direta das citocinas IL-6 e IL-10. Em outra casuística de pacientes com câncer de mama metastático foi demonstrado aumento de IL-6 proporcional ao aumento da idade (JEHN *et al.*, 2012). A hiperexpressão da IL-6 não seria pelo câncer, mas pela idade mais avançada, conforme demonstrado em mulheres sem neoplasias submetidas às biópsias musculares (AHTIAINEN *et al.*, 2012). A maior expressão de IL-10 em idosos, secretada por células T prejudicadas, é uma tentativa de melhorar a imunossupressão (CASTLE *et al.*, 1999), colaborando na patogênese de outras doenças comuns em idosos, como a degeneração macular (LIGHTMAN; CALDER, 2006). Portanto, a correlação destas 2 citocinas não é, necessariamente, pelo câncer, mas possivelmente pela idade mais avançada, como detectado nesse estudo.

Foi encontrado uma correlação direta e positiva entre as pacientes com idade superior a 70 anos e a hiperexpressão das quimiocinas TARC/CCL17 e a IP10/CXCL10, de acordo com

resultados replicados em outra série, com indivíduos saudáveis de longa sobrevivência, e mediana de 97 anos, com altos níveis de TARC/CCL17 e IP10/CXCL10 (MONTELLA *et al.*, 2021). Em idosos no Brasil (BambuÍ-MG) demonstrou-se diferentes expressões de quimiocinas relacionadas à idade, e à fragilidade, dentre elas a IP10/CXCL10 (De AMORIM *et al.*, 2020).

Portanto, nas pacientes desse estudo, as duas quimiocinas, TARC/CCL17 e a IP10/CXCL10, foram corretamente correlacionadas à idade mais avançada das pacientes, mas também eram portadoras de câncer. A hiperexpressão dessas duas quimiocinas pela idade leva ao raciocínio teórico de neutralização da ação de ambas, pois a TARC/CCL17 apresentaria efeito inibitório na progressão (BOUCHET *et al.*, 2020) e a IP10/CXCL10 se correlacionou, provavelmente, com menor sobrevivência de pacientes com neoplasia (WU, X. *et al.*, 2020).

#### 6.4.3 IMC

A obesidade apresentou correlação positiva com os Leucócitos totais do primeiro hemograma e correlação negativa com as quimiocinas Eotaxina/CCL11 e Rantes/CCL5 nas pacientes dessa série. Pessoas obesas, sem neoplasia, em comparação com a população não obesa, apresentam leucocitose correlacionada ao IMC (HERISHANU *et al.*, 2006; JULIUS *et al.*, 2014; LEE *et al.*, 2003). Nos pacientes com câncer e obesos há um fator de confundimento pois muitos tumores ao diagnóstico também induzem à leucocitose (SCHERNBERG *et al.*, 2017; TAVAKKOLI *et al.*, 2019; YOKOI *et al.*, 2020). Não se observou maior mortalidade nas pacientes obesas com câncer de mama, ou com leucocitose, nessa casuística.

A correlação entre a leucocitose e o prognóstico no câncer de mama é discutível. Há estudo demonstrando maior mortalidade (CONNOLLY *et al.*, 2010), e outro indicando maior sobrevivência (LI *et al.*, 2021). Sabe-se que o tecido adiposo é enriquecido com células imunes associadas a citocinas indutoras de resposta tipo Th2, como IL-4 e IL-13, e promotoras dos macrófagos M2. Os adipócitos representam o maior componente do tecido mamário, podendo conferir na mama um TME imunossupressor, associado ou não à leucocitose periférica induzida por outras vias (ZHANG; LIU, 2020).

Há correlação da obesidade com o risco de câncer de mama, com maior proporção de tumores Luminais B (MOTOKI *et al.*, 2022). A expressão de tumores RH+ em obesas necessariamente não propicia maior resposta antiestrogênica (NAGALINGAM *et al.*, 2021). Ressalta-se, no entanto, que a maior adiposidade está associada a redução da incidência de câncer de mama em mulheres na pré-menopausa, mas com maior risco em pacientes com maior idade, e geralmente, de tumores de mama RH+ (PREMENOPAUSAL ... *et al.*, 2018).

Encontrou-se correlações inversas, e significativas, entre o IMC e a Rantes/CCL5, e entre o peso corporal e a Eotaxina/CCL11. A Eotaxina/CCL11 também apresentou-se com menor expressão na população com maior peso corporal, mas sem neoplasia, em outro estudo (Van Der ZALM *et al.*, 2020). Em pacientes obesos, com IMC alto, mas também sem câncer, há relato de hiperexpressão de várias outras quimiocinas como IP10/CXCL10, ITAC/CXCL11 (HUESO *et al.*, 2018) e MCP1/CCL2 (PANG *et al.*, 2021). A hipoeexpressão da Eotaxina/CCL11 correlacionou-se à obesidade das mulheres desse estudo que também eram portadoras de câncer de mama. Novos estudos são necessários para entender esta correlação e suas implicações prognósticas, pois a Eotaxina/CCL11 pode colaborar na progressão da neoplasia (BEKAERT *et al.*, 2021; LIU *et al.*, 2017), mas como estava hipoeexpressa nas mulheres obesas dessa série, tal fato poderia minimizar a disseminação do tumor naquelas com maior IMC.

A hipoeexpressão de Rantes/CCL5 nas pacientes com câncer de mama e maior IMC nesse estudo, não foi replicado em outros relatos na literatura, mas há relato de maior expressão em obesos e não diabéticos (HOLMER-JENSEN *et al.*, 2011), em pacientes com sobrepeso e asma (TASHIRO *et al.*, 2020), e em obesos com doença arterial coronariana (GRAMLICH *et al.*, 2018). A hiperexpressão de outras quimiocinas em pacientes com câncer e maior IMC é preocupante, pela correlação com diversas morbidades (PANG *et al.*, 2021), como a aterosclerose e doenças cardiovasculares (MORENO *et al.*, 2022). Como não há relato na literatura da hipoeexpressão de Rantes/CCL5 em pacientes obesas concomitante ao câncer de mama aguarda-se futuros estudos, para tentar melhor compreender essa correlação. Se confirmado, a baixa expressão dessa quimiocina nas obesas e com câncer de mama, deve-se pesquisar se isso seria um fator atenuante, pois a hiperexpressão da Rantes/CCL5 está relacionada aos efeitos pró-tumorais (KARNOUB *et al.*, 2007).

#### 6.4.4 Álcool e Tabaco

O uso de álcool, independente da dose, e sua correlação com câncer de mama foi analisado nessa série. As pacientes etilistas apresentaram, ao diagnóstico, um tumor primário mais avançado. Há consistente correlação entre o consumo de álcool e o risco aumentado no desenvolvimento da neoplasia de mama (LIU; NGUYEN; COLDITZ, 2015; SHIELD; SOERJOMATARAM; REHM, 2016), mesmo nas usuárias leves, de até uma dose ao dia (BAGNARDI *et al.*, 2013). Esta dependência pode induzir tumores mais agressivos e de crescimento mais rápido (WANG *et al.*, 2017). Um viés seria que as pacientes com dependência às drogas poderiam não se cuidar adequadamente, atrasando os exames de rotina de diagnóstico precoce

do câncer, como a mamografia (RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ; RODRÍGUEZ-MÍGUEZ, 2021), e com isso apresentariam cânceres mais avançados ao diagnóstico.

Não se encontrou, nesse estudo, nenhuma correlação entre as quimiocinas e citocinas analisadas e as usuárias de álcool. Na literatura há forte evidência dos efeitos deletérios do álcool, com a hiperexpressão de VEGF e MCP1/CCL2, intensificando a tumorigênese e progressão de vários tumores (CHEN *et al.*, 2017). O etanol aumenta a secreção da Rantes/CCL5 em linhagens celulares de câncer de intestino, aumentando a migração dessas células (ZHAO *et al.*, 2018). A inibição da ligação desta quimiocina com os seus receptores CCR2/CCR5 minimiza o processo inflamatório, sendo eficaz na melhora da esteatohepatite induzida pelo álcool em camundongos (AMBADE *et al.*, 2019).

Em relação ao tabagismo se demonstrou correlação positiva e significativa entre as fumantes e a leucocitose do primeiro hemograma. O tabagismo está relacionado a quase duas dezenas de neoplasias (SCHERÜBL, 2021), mas não ao câncer de mama, embora a alta carga tabágica poderia estar correlacionada (REYNOLDS, 2013). Há fortes evidências do tabagismo induzindo vias inflamatórias indiretas, como a metilação do DNA dos Leucócitos, com maior risco de doenças cardiovasculares (SABOGAL *et al.*, 2020), ou alteração nas enzimas de reparo do DNA, em Linfócitos do sangue, com aumento indireto da suscetibilidade no desenvolvimento de câncer de pulmão (BOFFETTA *et al.*, 2002) e de fígado (PENG *et al.*, 2003). Tal dependência, portanto, induz danos oxidativos no DNA nas células do sangue periférico, em um tempo relativamente curto (KIYOSAWA *et al.*, 1990), sendo uma provável via na carcinogênese do câncer de mama ocasionado pelo uso do cigarro.

Nas mulheres fumantes desse estudo se encontrou maior percentagem de Linfócitos infiltrados no tumor (TIL) em comparação as não fumantes. Há escassas publicações científicas sobre essa correlação, mas nas doenças pancreáticas há mais estudos. E considerando que a mama também é uma glândula secretora, como o pâncreas, ela poderia sofrer uma ação similar do cigarro, com aumento da infiltração das células T e B (BHATIA *et al.*, 2020). No câncer de pâncreas está estabelecido a indução de inflamação crônica no TME pelo uso de cigarro e álcool (SHI; XUE, 2019). Mas também nesse assunto não há pleno consenso, sendo demonstrado que os macrófagos e células T, no baço de camundongos, tem os receptores colinérgicos nicotínicos alfa7 sinalizados negativamente pela nicotina, com redução da inflamação (NIZRI *et al.*, 2009).

As pacientes com câncer de mama fumantes desse estudo apresentaram, significativamente, maior concentração sérica de MIP3 $\alpha$ /CCL20 do que as não fumantes, mas não há registros dessa correlação na literatura. A expressão da MIP3 $\alpha$ /CCL20 é muito estudada nas doenças pulmonares. Em células epiteliais pulmonares normais tratadas com nitrosaminoacetona, derivado da nicotina, há hiperexpressão significativa de MIP3 $\alpha$ /CCL20,

sendo replicado esta alteração em fumantes com câncer de pulmão, piorando o prognóstico desses pacientes (WANG *et al.*, 2015). Esse estudo demonstrou correlação do uso do tabaco, em pacientes com câncer de mama, com a hiperexpressão da MIP3 $\alpha$ /CCL20, mas tal fato não impactou em pior sobrevida. Sabe-se que a alta expressão dessa quimiocina, principalmente no subtipo TN, correlaciona-se com a redução de sobrevida (LEE *et al.*, 2017). Tal correlação, tabagismo e MIP3 $\alpha$ /CCL20, no câncer de mama merece mais estudos.

### 6.5 Correlações das características patológicas entre si

O EGFR, p53 e Ki67, mensurados pela IH no tecido tumoral nesse estudo, apresentaram correlações significativas. A alta expressão do EGFR se correlacionou com outros biomarcadores de pior prognóstico, como a baixa expressão tanto de RE quanto de RP, e com a alta expressão do Ki67 e do p53. Outra série que analisou o EGFR, também em mulheres com câncer de mama, encontrou resultados semelhantes (CREIGHTON, 2012). A alta expressão de EGFR está correlacionada com câncer de mama TN, sendo um indicador auxiliar de diagnóstico neste subtipo tumoral (ARAÚJO *et al.*, 2022; HUANG *et al.*, 2021; VALENTIN *et al.*, 2012). Em análises de biópsias do tumor de mama RE e HER2 negativos também houve maior expressão de Ki67, de EGFR e de p53 (UMEMURA *et al.*, 2005), melhorando a compreensão destas múltiplas vias de sinalização (KWON *et al.*, 2021; NICOLINI; CARPI; TARRO, 2006) de acordo com as várias correlações do EGFR encontradas nesse estudo.

Concomitante com a hiperexpressão do p53 mensurado pela IH, nas pacientes com câncer de mama desse estudo, houve correlações significativas com outros fatores de mau prognóstico, como os tumores de histologia mais indiferenciada, com a hiperexpressão do Ki67, e com a hipoexpressão de RE. Na literatura há descrição de diferentes mutações no gene TP53, principalmente no éxon 4 e no íntron 3, em diferentes grupos étnicos (KAUR *et al.*, 2018), e principalmente no câncer de mama TN, com pior prognóstico (DUFFY; SYNNOTT; CROWN, 2018). Também foi encontrado, em outro grupo de pacientes, que a hiperexpressão concomitante de p53 e Ki67, detectados pela IH, distinguiu significativamente um subgrupo de pior sobrevida, e menor resposta a endocrinoterapia, dentre os tumores Luminais (KOBAYASHI *et al.*, 2013).

## 6.6 Características dos biomarcadores patológicos com as quimiocinas e citocinas

Na presença do infiltrado inflamatório peritumoral encontrou-se, nesse estudo, correlação positiva com a maior expressão de MCP1/CCL2 e GroAlfa/CXCL1. E esse infiltrado peritumoral se correlacionou, também significativamente, com maior progressão da neoplasia. A resposta inflamatória é determinante na progressão tumoral e sobrevida, mas deve-se analisar o tipo, a densidade e a localização do infiltrado de células inflamatórias (MOHAMMED *et al.*, 2012). Sabe-se que a alta expressão do infiltrado inflamatório após a quimioterapia neoadjuvante se correlaciona com maior SG em pacientes com tumores TN (DIECI *et al.*, 2014), e a detecção predominante de células T CD8+ no TIL aumenta significativamente essa sobrevida (MIYASHITA *et al.*, 2015). Nos tumores HER2+ há maior remissão completa patológica naquelas com maior infiltração de TILs, tanto estromal quanto intratumoral (DIECI *et al.*, 2016), em resposta à terapia alvo específica (FUMAGALLI *et al.*, 2017).

A análise das correlações da MCP1/CCL2 e da GroAlfa/CXCL1 com o infiltrado inflamatório das 81 pacientes foi significativa, e confirmado por outros autores. Em cultura de células de câncer de mama foi demonstrado que a hiperexpressão de MCP1/CCL2, e IL-8/CXCL8, nos tecidos de tumores TN, induz alta infiltração de TAMs (MOHAMED *et al.*, 2020). No entanto, não se detectou correlação significativa de MCP1/CCL2 e da GroAlfa/CXCL1 com o infiltrado inflamatório dentre de cada subtipo, Luminal A, Luminal B, HER2 ou TN, provavelmente pelo pequeno número de cada. Sabe-se que as quimiocinas se expressam diferentemente nestes subtipos. Nas neoplasias TN a alta expressão de Rantes/CCL5 foi associada ao recrutamento de células T CD8, CD4, NK e macrófagos M1, indicadores de melhor evolução (ARAUJO *et al.*, 2018). Em cultura de células dos quatro subtipos de tumores, as Luminal A apresentaram menor secreção de MCP1/CCL2, e também de TNF- $\alpha$ , justificando o baixo índice proliferativo desta neoplasia (AUTENSHLYUS *et al.*, 2021).

Há uma sinalização parácrina entre o carcinoma e as células mielóides e as endoteliais, que intensifica a progressão da neoplasia impulsionada pela superexpressão de GroAlfa/CXCL1, e de CXCL2 nas células neoplásicas (ACHARYYA *et al.*, 2012). A GroAlfa/CXCL1 é a quimiocina mais abundante secretada por TAMs, sugerindo que a alta expressão desta quimiocina no TME está significativamente correlacionada ao subtipo TN, com menor sobrevida (WANG, N. *et al.*, 2018), induzindo a migração e invasão de células de câncer de mama através da sinalização pela via ERK/MMP2/9 (YANG *et al.*, 2019). A síntese de GroAlfa/CXCL1 também ocorre em CAFs e é regulada negativamente pela sinalização de TGF- $\beta$  (ZOU *et al.*, 2014). Portanto, na análise das 81 participantes demonstrou-se a correlação positiva entre a maior expressão da GroAlfa/CXCL1 e a MCP1/CCL2 com o infiltrado tumoral, em concordância com a literatura.

Não se observou correlação da expressão do EGFR no tumor com as citocinas e quimiocinas analisadas. A perda dos 31 espécimes na construção do TMA possivelmente reduziu o poder estatístico dessa correlação. Na literatura há poucas descrições da correlação do EGFR com a expressão de citocinas no câncer de mama. Um artigo demonstrou que nos tumores TN pode haver sinalização simultânea das vias IL-6, STAT3, Notch e do EGFR (IBRAHIM *et al.*, 2017), outro que o EGFR e o CXCR7, ativados pelos seus ligantes, induzem o crescimento de células do câncer em meio de cultura (SALAZAR *et al.*, 2014). A IP10/CXCL10 também se mostrou capaz de sinalizar CXCR3 e EGFR em células de câncer de mama (TSUTSUMI *et al.*, 2022). A ausência de correlação do EGFR com as quimiocinas neste estudo, e a escassez de análises clínicas na literatura, provavelmente reflete sinalizações carcinogênicas por outros ligantes, ou indiretamente pela ativação intracelular. Mas o EGFR deve ser mais estudado, pois pode ser um alvo importante na terapêutica do câncer de mama, como já é no câncer de pulmão (YANG *et al.*, 2021).

Encontrou-se nessa série correlação significativa entre as pacientes com expressão de p53 positivo, pela IH, e maiores níveis séricos de TARC/CCL17. Esta correlação clínica em câncer de mama é pouco estudada, com maiores relatos em análises pré-clínicas. Em culturas de células epiteliais normais foi demonstrado a função da p63, membro da família p53, como fator regulador positivo da TARC/CCL17, e na remodelação epitelial do eixo p63-TARC/CCL17, participando ativamente no recrutamento de células T (KUBO *et al.*, 2008). Na senescência de fibroblastos humanos há expressão ectópica do receptor CXCR2, ligado por várias quimiocinas, entre elas a TARC/CCL17, dependente da expressão da p53 (ACOSTA *et al.*, 2008). Em células p53 mutadas pode haver regulação positiva de outras quimiocinas como ENA78/CXCL5, IL-8/CXCL8 e CXCL12 com intensificação da tumorigênese (YEUDALL *et al.*, 2012). No entanto, persiste a carência de estudos clínicos e experimentais, no câncer de mama, para compreender adequadamente as correlações da p53 com as quimiocinas.

As pacientes desse estudo apresentaram correlação direta e significativa do Ki67, expresso como positivo ou negativo, com Eotaxina/CCL11 e MCP1/CCL2, e naquelas com Ki67 > 14% observou-se hiperexpressão da TARC/CCL17.

Há outras descrições de correlações do Ki67 com a CXCL13 e a MIG/CXCL9, altamente expressas no tecido tumoral da mama (RAZIS *et al.*, 2020). Encontrou hiperexpressão sérica de Ki67 e de ENA78/CXCL5 e CXCL7 (WANG *et al.*, 2013), e correlações do RE e Ki67 com MIP1 $\beta$ /CCL4, CCL8, MIP3 $\alpha$ /CCL20, IL-8/CXCL8, MIG/CXCL9 e CXCL17 (FRANZÉN *et al.*, 2019). Em cultivo celular dessa neoplasia com células estromais normais detectou-se alterações na expressão de MCP1/CCL2 e Ki67 (POTTER *et al.*, 2012), e em nódulos metastáticos pulmonares do câncer de mama em camundongos encontrou-se aumento significativo de Ki67, co-expressos



positivamente com MIG/CXCL9 e IP10/CXCL10 (PEIN *et al.*, 2020). Esse estudo acrescenta a correlação positiva entre o Ki67, expresso no tumor, e as quimiocinas Eotaxina/CCL11, MCP1/CCL2 e TARC/CCL17, mensuradas no soro. Não há, ainda, uniformidade na co-expressão das quimiocinas com o ki67.

Na análise da expressão dos receptores hormonais, individualmente e não agregados nos subtipos tumorais pela IH, como negativos ou positivos, não se encontrou correlação com as quimiocinas. Há uma complexa e imprecisa interação entre o estrogênio, e seu receptor, com as quimiocinas, dependente de variada expressão genotípica de SNP (HO *et al.*, 2016). No ambiente controlado do estudo pré-clínico é possível isolar fatores de interferência e estudar a via de interesse, entre células RE positivas (WANG *et al.*, 2006), ou RE negativas e as quimiocinas (SenGUPTA *et al.*, 2021). Mas quando se analisa os receptores hormonais e suas interações na mulher com câncer de mama se percebe sinalizações múltiplas (SVENSSON *et al.*, 2015) nos diversos subtipos tumorais (FRANZÉN *et al.*, 2019), dificultando a detecção de correlações com estes receptores isoladamente.

As correlações entre as quimiocinas e os receptores hormonais, individualmente são descritas, mas com discordâncias. Em mulheres com câncer de mama demonstrou correlação inversa desses receptores com a MCP1/CCL2 e outras quimiocinas (CHAVEY *et al.*, 2007), mas em cultura de células de câncer de mama houve correlação positiva do RE $\alpha$  com maior secreção de MCP1/CCL2 (WANG, T. *et al.*, 2021). Descreve-se correlação significativa com maior concentração sérica da MIG/CXCL9 em pacientes com tumores RE negativo (RUIZ-GARCIA *et al.*, 2010), e da IP10/CXCL10 com o RE positivo, mas induzindo pobre resposta a endocrinoterapia; e a inibição desta quimiocina, em experimento em animais, restaurou a sensibilidade ao tamoxifeno (WU, X. *et al.*, 2020).

Foi demonstrado, no entanto, que em mulheres com câncer de mama RE+, a hiperexpressão de IP10/CXCL10, detectada por IH, aumentaria a resposta ao tamoxifeno (HILBORN *et al.*, 2014). E em análise de células tumorais circulantes de pacientes com câncer de mama a elevação do RH foi independente da IP10/CXCL10, mas dependente de MIG/CXCL9 e ITAC/CXCL11 (EJAEIDI *et al.*, 2015). Na indução da expressão da Rantes/CCL5, em camundongos deficientes desta quimiocina em tumores RH negativos, como o TN, houve menor crescimento, mas em mulheres com esta neoplasia, a hiperexpressão correlacionou com o aumento do tumor (ZHANG *et al.*, 2013). Há, portanto, necessidade de mais análises em futuros estudos para compreender estas correlações dos receptores hormonais com as quimiocinas.

## 6.7 Subtipos moleculares pela IH e correlações com as quimiocinas e citocinas

Na análise dos tumores pela IH, formando os subtipos Luminal A, Luminal B, HER2 e TN, conforme as diversas expressões de RE, RP, ki67 e HER2, constatou-se correlações significativas com as quimiocinas, principalmente nas portadoras de tumores Luminal B. Detectou-se nesse subtipo tumoral maiores níveis séricos da TARC/CCL17, mas isso não impactou na SG. Houve, também, hipoexpressão de ENA78/CXCL5 e de MIG/CXCL9 e hiperexpressão da MIP1 $\beta$ /CCL4, apenas nas Luminais B, com impacto significativo na sobrevida dessas pacientes.

A TARC/CCL17 está mais expressa em tumores de maior agressividade, como o Luminal B. Em co-culturas de células do câncer de mama e CAFs, esta quimiocina promoveu migração e invasão neoplásica (LI *et al.*, 2019), e na sua depleção houve inibição da EMT (ES *et al.*, 2021). A inserção de DNA plasmidial codificador de TARC/CCL17 e de Rantes/CCL5, em células tumorais de câncer de mama e intestino, resultou em altos níveis destas quimiocinas em modelos murinos (BOZIC *et al.*, 2021). Na hipermetilação na glândula mamária de camundongos houve iniciação da neoplasia, com secreção de TARC/CCL17 e CXCL14 pelos fibroblastos no TME, induzindo a EMT (WANG, Y. *et al.*, 2018).

Portanto, em análises pré-clínicos sinaliza-se a colaboração da TARC/CCL17 na carcinogênese da neoplasia de mama, embora seja dependente e modulada por outras proteínas. Na hiperexpressão de RE $\alpha$ , em metástases ósseas dessa neoplasia, a indução da expressão de TARC/CCL17 e de MIP3 $\alpha$ /CCL20, mas com repressão de TGF- $\beta$ 3, em camundongos, resultou em recrutamento de Linfócitos T CD8+, e redução significativa dessas metástases (BOUCHET *et al.*, 2020), mas na presença concomitante de RE $\alpha$  e RANK há intensificação das lesões ósseas (VARGAS *et al.*, 2019). A presença da expressão do receptor CCR4, ligante preferencial da TARC/CCL17, é diferente nos subtipos de câncer de mama humano, e a sobrevida é significativamente menor quando há hiperexpressão desse receptor (LI *et al.*, 2012).

Em mulheres norte-americanas com câncer de mama detectou-se que cinco quimiocinas (CCL7, IL-8/CXCL8, TARC/CCL17, MIP3 $\alpha$ /CCL20 e CCL25) estavam mais elevadas nas negras do que nas brancas, mas apenas a hiperexpressão de TARC/CCL17 concomitante com a CCL25 foi associada a redução da SG nas negras (THOMAS *et al.*, 2019). A TARC/CCL17 está significativamente mais expressa nas portadoras de tumores Luminal B desse estudo, em relação aos outros subtipos tumorais. Mas essa hiperexpressão não impactou negativamente a sobrevida, sendo necessário mais estudos para confirmar, ou negar, tal resultado nos vários subtipos de câncer de mama, além de avaliar a interferência da TARC/CCL17 na sobrevida nas diversas etnias da população brasileira, propiciando maior detalhamento prognóstico.

A hipoexpressão da ENA78/CXCL5 em um grupo de pacientes com tumores Luminais B implicou em maior risco de morte, significativamente. Em análises pré-clínicas, geralmente, correlaciona-se a hiperexpressão, e não a hipoexpressão, desta quimiocina com a maior agressividade da neoplasia, mas é dependente da co-expressão do TGF- $\beta$ , conforme demonstrado em camundongos com carcinoma mamário (NOVITSKIY *et al.*, 2011). Também em camundongos evidenciou-se que a inflamação periodontal induz a produção de IL-1 $\beta$ , que sinaliza a expressão de ENA78/CXCL5 e outras quimiocinas, com recrutamento de MDSC e macrófagos, gerando nichos pré-metastáticos no sítio inflamatório ósseo (CHENG *et al.*, 2020). Em geral a correlação de duas ou mais quimiocinas é que sinaliza as metástases do câncer de mama, como secreção de ENA78/CXCL5 e MCP1/CCL2, ativando a transcrição mediada por NF- $\kappa$ B, com piores desfechos clínicos (LI, X. *et al.*, 2020).

Portanto, a expressão de uma quimiocina é importante na evolução da neoplasia, mas é dependente de outros fatores. Esses promotores da neoplasia de mama podem ser secretados, por exemplo, pelos osteoblastos, juntamente com a ENA78/CXCL5, induzindo a EMT em camundongos (HSU *et al.*, 2013). Também em co-cultura *ex-vivo* de células de câncer de mama em ossos, em modelo animal, foi identificado a ENA78/CXCL5 como indutora da colonização metastática (ROMERO-MORENO *et al.*, 2019). E o gene da ciclina D1 pode codificar uma holoenzima que induz CAFs humanos, no estroma tumoral, a secretarem até 30 vezes mais inúmeros fatores indutores da neoplasia, como a ENA78/CXCL5 (PESTELL *et al.*, 2017). Há descrição de maior correlação desta quimiocina com os tumores de mama HER2+, em progressão após tratamento (GIULIANO *et al.*, 2019).

A hipoexpressão de ENA78/CXCL5 pode ocorrer, no entanto, em diversas situações no câncer de mama, como demonstrado em camundongos induzidos à superexpressão de  $\beta$ -catenina, resultando em regulação negativa de ENA78/CXCL5 e GroAlfa/CXCL1, e estando associado à supra-regulação de genes supressores tumorais, como TP53 e TRAIL, e redução de metástases cerebrais (SANO, T. *et al.*, 2021). Também o fator de iniciação da tradução eucariótica 2 $\alpha$ , correlacionado com a sobrevida no câncer de mama TN, pode regular negativamente a expressão do PD-L1 e da ENA78/CXCL5 (ZOU *et al.*, 2017).

Outra situação com hipoexpressão de quimiocinas é na expansão do tumor de mama para os linfonodos axilares. Há redução da expressão de ENA78/CXCL5 e CXCL12, semelhante às doenças autoimunes ou infecciosas, no preparo de estruturas terciárias linfonodais, na tentativa de controle da disseminação das células tumorais (GANTSEV *et al.*, 2013). Também em mulheres com tumores mais agressivos, nos estádios iniciais, a depender do SNP há diferentes expressões de ENA78/CXCL5, sendo que americanas negras na pré-menopausa apresentaram risco reduzido de câncer de mama conforme a expressão do polimorfismo de ENA78/CXCL5-rs425535, mas

entre as brancas não houve esta associação (GONG *et al.*, 2013). Portanto, encontrou-se naquelas com câncer Luminal B e hipoexpressão de ENA78/CXCL5 redução de sobrevida, mas tal resultado é inédito na literatura. Há necessidade de mais pesquisa para detectar quais cofatores estariam colaborando com a hipoexpressão dessa quimiocina, e aumentando o risco de morte.

Nesse estudo, as portadoras de tumores Luminais B com hipoexpressão de MIG/CXCL9 apresentaram menor SG. Esta quimiocina é considerada inibidora da angiogênese e antitumoral, e a sua baixa expressão pode ser considerada um fator negativo para a sobrevida (ZHANG *et al.*, 2006), em concordância com o resultado desse estudo. A hiperexpressão de genes codificadores de MIG/CXCL9 e de IP10/CXCL10 induzem maior atração de células Th1, T CD8+ e NK, reforçando a sua ação antitumoral (RACIOPPI *et al.*, 2019). As células NK induzidas para o TME pela expressão de MIG/CXCL9 são fundamentais para a limitação do crescimento tumoral e das metástases, conforme demonstrado em estudo com camundongos injetados com células tumorais MIG/CXCL9+, em comparação com a indução com células tumorais que não expressavam essa quimiocina (WALSER *et al.*, 2007).

Em modelo murino de câncer de mama TN e Luminal B também se identificou a expressão gênica positiva de MIG/CXCL9 em células dendríticas intratumorais, reforçando a sinalização antitumoral desta quimiocina (De MINGO PULIDO *et al.*, 2018). Em estudo de análise gênica do TME, em mais de duas centenas de mulheres com câncer de mama Luminal B, encontrou-se que a hiperexpressão concomitante de MIG/CXCL9 e IP10/CXCL10, dentre outras proteínas, se correlacionou com indução de alta expressão de células imunológicas no TME, mas com pior prognóstico no subgrupo de portadoras de tumores Luminais B (LV *et al.*, 2022). Em análise da expressão de mRNA de MIG/CXCL9 no tecido tumoral de mulheres com câncer de mama foi, no entanto, significativamente associado a maior sobrevida naquelas com tumores RE negativos, e se mostrou positivamente correlacionado, em intensidade variada, com os fatores LAG3, PD-1, PD-L1 e CTLA4 (LIANG *et al.*, 2021).

Há, portanto, prognósticos diferentes à MIG/CXCL9, a depender da concomitância de expressão com outra quimiocina, ou conforme o subtipo tumoral. Análise da expressão do mRNA de quimiocinas em mais de cinco centenas de mulheres com todos os subtipos de câncer de mama, demonstrou que a maior expressão de MIG/CXCL9 foi de prognóstico desfavorável, mas nas do subtipo TN correlacionou-se com maior sobrevida. A hiperexpressão de CXCL13 conferiu maior sobrevida ao subtipo HER2+, mas as pacientes com baixa expressão de MIG/CXCL9 e CXCL13 apresentaram, significativamente, sobrevida mais curta, em comparação àquelas com alta expressão de ambas (RAZIS *et al.*, 2020). Os níveis transcricionais elevados de MIG/CXCL9, IP10/CXCL10, CXCL2, CXCL11 e CXCL13 em tecidos de câncer de mama, e baixos

níveis de CXCL3, foram associados ao melhor prognóstico, mas há interferência da idade do paciente, do subtipo tumoral e do *status* dos linfonodos axilares (LI, Y. *et al.*, 2020a). Portanto, de acordo com o resultado desse estudo, replicado em alguns outros, a hipoexpressão de MIG/CXCL9 em pacientes com tumores de mama Luminal B pode caracterizar mau prognóstico, com redução na sobrevida devido a menor inibição angiogênica.

Nas pacientes desse estudo, aquelas com hiperexpressão da MIP1 $\beta$ /CCL4, no subtipo Luminal B, observou-se aumento do risco de morte. A maior expressão desta quimiocina já é identificada em mulheres com maior densidade no tecido mamário, com maior risco para o câncer de mama, juntamente a outras quimiocinas (ABRAHAMSSON; RZEPECKA; DABROSIN, 2018). Na disseminação da neoplasia da mama há contribuição da MIP1 $\beta$ /CCL4, como demonstrado em culturas de células MCF-7, de baixo potencial metastático, que se tornam invasivas após a adição desta quimiocina neste meio de cultura (BAGHEL *et al.*, 2016). Em outra linhagem de células de câncer de mama murino, 4T1, há proliferação tumoral em situação de hipóxia, sustentado pela MIP1 $\beta$ /CCL4, que induz os fibroblastos a expressar diversas sinalizações, contribuindo para a ocorrência de metástases ósseas em camundongos (SASAKI *et al.*, 2016).

No entanto, conforme demonstrado em análises pré-clínicas, a ação dessa quimiocina é dependente dos receptores que podem estar expressos ou não, e a MIP1 $\beta$ /CCL4 é ligante de CCR5 e CCR1 e sinalizará na presença destes receptores (NATH *et al.*, 2006). Há diferentes SNPs da MIP1 $\beta$ /CCL4, com diferentes prognósticos, geralmente ruins (HU *et al.*, 2018). Esses achados pré-clínicos são replicados nos estudos clínicos, como em mulheres norte-americanas negras, com hiperexpressão da MIP1 $\beta$ /CCL4 e com significativo pior prognóstico (LYON *et al.*, 2014). Em biópsias de cânceres de mama a análise de centenas de proteínas demonstrou-se que a MIP1 $\beta$ /CCL4 se correlacionou com tumores mais agressivos (FRANZÉN *et al.*, 2019), sendo que a maior agressividade tumoral é, geralmente, pela expressão concomitante MCP1/CCL2, MIP1 $\beta$ /CCL4 e IL-8/CXCL8 (CHAVEY *et al.*, 2007).

Em mulheres finlandesas com câncer de mama foi demonstrado que a maior expressão de MIP1 $\beta$ /CCL4, associado a MCP1/CCL2 e a IL-13, oferece maior risco na incidência de tumores RE+. Mas na elevação dos níveis de apenas duas, a MIP1 $\beta$ /CCL4 e a IL-13, houve maior expressão de tumores RE negativo, mais agressivos (LI, S. *et al.*, 2020). A hiperexpressão de MIP1 $\beta$ /CCL4 sinaliza para tumores de pior prognóstico e provavelmente com redução na sobrevida, mas poucos demonstraram tão claramente o aumento de mortalidade no subtipo Luminal B, como apresentado nesse estudo.

Na progressão do tumor primário da mama para os linfonodos axilares também há uma cascata de sinalizações, com a colaboração da MIP1 $\beta$ /CCL4. A migração de Leucócitos *in vivo*,

analisado pela IH em camundongos, para linfonodos axilares comprometidos pela neoplasia, demonstrou expressões aumentadas de MIP1 $\alpha$ /CCL3, MIP1 $\beta$ /CCL4, Rantes/CCL5, MCP1/CCL2, Eotaxina/CCL11 e IL-8/CXCL8 em diversos tipos destas células inflamatórias. Mas no grupo controle, os animais com neoplasia de mama sem comprometimento linfonodal pelo tumor, houve expressão apenas de Rantes/CCL5 (TEDLA *et al.*, 1999). E mesmo no cenário de câncer de mama metastático há um padrão, mensurado no soro, de secreção de várias quimiocinas, com melhor sobrevida se baixos níveis de IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, MCP1/CCL2, MIP1 $\beta$ /CCL4 e TGF- $\beta$ , e um grupo com pior sobrevida e altos níveis de IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, MCP1/CCL2 e IFN- $\gamma$  (PACCAGNELLA *et al.*, 2022).

A hipoexpressão de ENA78/CXCL5 e de MIG/CXCL9, e a hiperexpressão da MIP1 $\beta$ /CCL4, em parte das pacientes com tumores Luminal B, indicaram menor SG, significativamente, em relação às outras do subgrupo Luminal B com expressões opostas, mas não concomitantes, destas três quimiocinas. Mas ressalta-se, mais uma vez, a necessidade de mais estudos para entender esta “orquestra de quimiocinas” entre os diversos subtipos de câncer de mama, com análise atenciosa aos subgrupos, mensurando adequadamente as características clínicas dessas pacientes. Neste cenário, pode-se afirmar, com significância estatística, que dentre as pacientes com tumores Luminal B, conforme a expressão de uma destas três quimiocinas, haverá maior risco de óbito.

As pacientes com tumores HER2+ dessa série apresentaram correlação positiva e significativa com a IL-10 e a IL-6, mas não com o TNF- $\alpha$ . Há intensa colaboração, e dependência entre estas 3 citocinas. A IL-6 contribuiu para o aumento de apoptose induzida pelo TNF- $\alpha$  (SANO, E. *et al.*, 2021), mas a co-expressão das duas pode induzir prognósticos diferentes. Em mulheres com câncer de mama, com IL-6 e TNF- $\alpha$  elevados, houve maior envolvimento linfonodal e invasão vascular, mas interessantemente, a hipoexpressão de ambas foi associada a menor sobrevida (TRIPSIANIS *et al.*, 2014). A concomitância da hiperexpressão de IL-6, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1 e de HER-2 induz risco de morte 4 vezes maior, em comparação com apenas 3 destes biomarcadores positivos (TRIPSIANIS *et al.*, 2013). O TNF- $\alpha$  pode promover diferentes sinais, como de ativação, diferenciação, sobrevivência ou morte celular, a depender das interações (MARTÍNEZ-REZA; DÍAZ; GARCÍA-BECERRA, 2017).

Nesse subgrupo de pacientes com tumores de mama HER2+ a correlação positiva e significativa de IL-6 com IL-10 não interferiu na SG, sendo que essas pacientes fizeram uso do anticorpo monoclonal trastuzumabe, anti-HER2, associado a quimioterapia, minimizando a agressividade pela hiperexpressão do HER2. Esse fato seria um viés para a análise da possível intensificação de agressividade da IL-6 e da IL-10 nesse subtipo de tumor. Todas as pacientes HER2+ dessa série usaram o trastuzumabe, com redução significativa da mortalidade,

ultrapassando a sobrevida das pacientes com tumores Luminais B, conforme demonstrado em outra casuística (BERDIEL-ACER *et al.*, 2021).

A hiperexpressão de HER2 induz a secreção de IL-6, intensificando o infiltrado inflamatório no TME (HARTMAN *et al.*, 2011). A sobrevida das pacientes com tumores HER negativo, mas não nos HER2+, foi significativamente menor na presença de alta co-expressão tumoral de VEGF e IL-6 (TAWARA *et al.*, 2019). Embora a resistência ao trastuzumabe pode ser intensificada pela hiperexpressão da IL-6, ativando outras vias de sinalização (KORKAYA *et al.*, 2012), os dados confirmam a co-hiperexpressão de HER2 e IL-6 nos tumores de mama HER2+ nesse estudo, mas sem alterar a sobrevida das pacientes, pela eficiência do tratamento.

A correlação entre a hiperexpressão do HER2 e a IL-10 é descrita por outros autores no câncer de mama, como sendo um biomarcador de mau prognóstico (BHATTACHARJEE *et al.*, 2016). Mas não há unanimidade nesta correlação, sendo que dentre vários polimorfismos da IL-10, nenhum deles se mostrou de valor prognóstico (KOROBENIKOVA *et al.*, 2015). Em análise de sobrenadante de cultura de células de câncer de mama na detecção de IL-10, concomitante ao TGF- $\beta$ 1 e IL-12, houve inibição de resposta imunológica antitumoral (HECKEL *et al.*, 2011). Em geral os tumores de alta agressividade, como os HER2+ e os TN, expressam significativamente mais citocinas, como a IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, e também IL-8/CXCL8 e a MIP1 $\beta$ /CCL4 (CHAVEY *et al.*, 2007). O presente estudo confirma a correlação de hiperexpressão de IL-10 em tumores de mama HER2+, mas sem interferência na sobrevida, pelo uso correto do trastuzumabe.

Nas pacientes com tumores TN confirmou-se que a maior expressão sérica da IL-6 representa, significativamente, maior risco de morte. Neste subtipo de neoplasia descreve-se uma dezena de genes relacionados a expressão de citocinas, e a hiperexpressão de IL-6 e IL-8/CXCL8 reduziu significativamente a sobrevida destas pacientes (HARTMAN *et al.*, 2013). Em cultura de células de câncer de mama, replicadas em camundongos, verificou-se que a sinalização de IL-6 e da Rantes/CCL5 intensifica o crescimento das células dos tumores TN e a possibilidade de metástases (JIN; PANDEY; POPEL, 2018). A estimulação simultânea da IL-6 e da MCP1/CCL2 reduz a expressão de genes relacionados ao ciclo circadiano, como de genes supressores de tumor, nas células epiteliais da mama (YU *et al.*, 2018), e na inibição de MCP1/CCL2 e IL-6 reduz-se as metástases, com aumento da sobrevida, em animais com neoplasia (BONAPACE *et al.*, 2014).

## 6.8 Possíveis receptores relacionados à expressão das quimiocinas nas pacientes com tumores Luminal B

Não se fez nesse estudo a análise da expressão de receptores das quimiocinas. Mas fez-se um exercício de possibilidades de quais receptores poderiam, ou não, serem ativados conforme a expressão das quimiocinas nessas pacientes com tumores do subtipo Luminal B. Verificou-se, então, que nestas pacientes, haveria maior sinalização dos receptores CCR do que os CXCR. A TARC/CCL17 e a MIP1 $\beta$ /CCL4 hiperexpressas são ligantes preferenciais dos receptores CCR2/CCR4 e CCR1/CCR3/CCR5, respectivamente. A ENA/CXCL5 e a MIG/CXCL9 apresentaram-se hipoexpressas, e, portanto, não ativariam adequadamente os seus receptores preferenciais CXCR1/CXCR2 e CXCR3/CXCR7. Neste cenário ter-se-ia então uma pior evolução deste grupo de pacientes com tumores Luminais B pela sinalização por duas quimiocinas dos receptores CCR, mas com baixa sinalização dos receptores CXCR.

A ativação do receptor CCR2 pela TARC/CCL17 poderia intensificar a progressão tumoral (FANG *et al.*, 2021), e do CCR4 a infiltração tumoral pelas Tregs (SARKAR *et al.*, 2022), ou direcionando a célula tumoral da mama CCR4+ para o pulmão (OLKHANUD *et al.*, 2009). Portanto, CCR2 e CCR4 ativados pela TARC/CCL17 hiperexpressa nas pacientes com tumores Luminal B desse estudo, poderia colaborar com um fenótipo mais agressivo, embora não tenha refletido em maior risco de morte.

Os receptores CCR1, CCR3 e CCR5 podem ser sinalizados pela MIP1 $\beta$ /CCL4, promovendo neoplasia de mama mais agressiva em mulheres (YAMAGUCHI *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2009). Análise de células estromais circulantes com alta expressão de CCR5+, em pacientes com câncer de mama metastático, correlacionou, significativamente, com pior sobrevida (RAGHAVAKAIMAL *et al.*, 2022). Então, hipoteticamente, a MIP1 $\beta$ /CCL4 hiperexpressa seria ativadora de alguns destes receptores CCR nas pacientes com tumores Luminal B desse estudo, com pior evolução, de acordo com a literatura.

Se hiperexpressa a ENA78/CXCL5 seria ligante preferencial de CXCR1 e CXCR2, induzindo a maior agressividade (BRANDOLINI *et al.*, 2015), mas como estava hipoexpressa não ativaria estes dois receptores, embora a multiplicidade de sinalizações é a regra, sendo que o estradiol, sinalizador do RE, pode induzir a ativação do CXCR1 (JIANG *et al.*, 2013). A quimiocina MIG/CXCL9 também hipoexpressa nas pacientes Luminal B desse estudo, não ativariam seus receptores preferenciais, CXCR3 e/ou CXCR7. O CXCR3 estaria relacionado a maior resposta a quimioterapia e maior sobrevida (GUO *et al.*, 2019), embora as suas duas isoformas possam induzir respostas diferentes quando ativados (LEVESQUE; ROY; SALAZAR, 2021; OGHUMU *et al.*, 2014; TSUTSUMI *et al.*, 2022).



Com relação ao CXCR7, também hipoteticamente não sinalizado, pois a MIG/CXCL9 apresentou-se hipoexpressa, não haveria inibição da angiogenese, ou efeitos antitumorais (ZHANG *et al.*, 2006), com pior sobrevida dessas pacientes, de acordo com o resultado dessa série. A expressão de CXCR7 é significativamente mais amplificada no tumor Luminal, em comparação aos subtipos HER2+ e TN, mas esse receptor quando ativado pode modular a expressão de RE $\alpha$  (HAO *et al.*, 2018), ou interagir com o EGFR, induzindo maior proliferação celular (SALAZAR *et al.*, 2014).

A proliferação tumoral não depende, exclusivamente, de uma única quimiocina ou de um único receptor, mas de múltiplas quimiocinas e sinalização de vários receptores (THOMAS *et al.*, 2019). Mas sabe-se que a expressão adequada dos receptores é fundamental para que as quimiocinas possam sinalizar. Nesta “orquestra” de secreção das quimiocinas, ainda percebida como “desafinada”, a real interpretação destas múltiplas vias, ativando inúmeros receptores, resultando em proliferação ou inibição da neoplasia, provavelmente é dependente das somatórias das correlações negativas e positivas destas quase infinitas sinalizações. E tanto as quimiocinas como os seus receptores são realmente efêmeros, com mensuração possível, mas difícil. Estas proteínas mediadoras são fugazes, interagindo com o seu receptor, e após a sinalização elas podem ser internalizadas nas células e ubiquitinizadas (HATTERMANN *et al.*, 2014).

Embora de difícil entendimento, com mensurações sujeitas a inúmeros vieses, essas múltiplas sinalizações pelas quimiocinas são fundamentais para capacitar uma resposta inflamatória sustentada no TME, necessárias para a deleção das neoplasias. Provavelmente tal deleção é eficaz não permitindo a evolução de inúmeros casos de câncer não detectados clinicamente, pela competência imunológica. No entanto, 0,32% da população brasileira desenvolve algum tipo de neoplasia ao ano (BRASIL, 2023), pela imuno-incompetência associada a fatores hereditários e ambientais. E nestes tumores que progridem, pelo desacerto do sistema imunológico inato e adaptativo, ocorre uma inflamação crônica, com viés nitidamente pró-tumoral, com a colaboração de inúmeras quimiocinas e citocinas (PITT *et al.*, 2016). Na falha da sua função de colaborar na destruição do nicho tumoral inicial, as quimiocinas são coaptadas para a progressão tumoral, embora possam propiciar um infiltrado inflamatório com interferência no prognóstico do paciente com câncer, discutido abaixo.

### 6.9 Análises pela IH do escore inflamatório (células T CD4, T CD8 e Treg FOXP3) no TME e suas correlações

Fez-se também a análise qualitativa do TME. O infiltrado de células T no microambiente tumor, das pacientes desse estudo, foi considerado positivo se expressasse 1% ou mais, pelo método de TMA. E nesse parâmetro 80% expressaram Linfócitos T CD4+ e T CD8+, e 60% as células T FOXP3+ no TME. Houve uma correlação positiva entre o T CD8+ e o T CD4+, entre T CD4+ e o FOXP3+ e entre T CD8+ e o FOXP3+, indicando que na presença de um desses subtipos de Linfócitos no infiltrado haveria chance, significativa, de se encontrar outro tipo de célula T. Sabe-se que o TME vai comportar múltiplas células inflamatórias, sendo importante quantificar os TILs, e especificar o tipo da célula inflamatória, a sua localização neste microambiente, e atentar para as mudanças desse infiltrado das células imunológicas conforme a evolução da neoplasia.

A quantificação e a qualificação das células inflamatórias, ao redor das células tumorais, melhorou a avaliação prognóstica do paciente com câncer, além de predizer a resposta ao tratamento em diversos tumores, como no melanoma (LADÁNYI, 2015) ou nos vários subtipos do câncer de mama (DENKERT *et al.*, 2018). A maior sobrevida de pacientes com câncer, e maior resposta ao tratamento, está correlacionada não apenas com a maior expressão de TILs, mas na maior concentração de células T CD8+ e menor expressão de Treg FOXP3+, Th2 e Th17 (FRIDMAN *et al.*, 2011). No entanto, o infiltrado quase sempre será diversificado, pois em modelo de câncer de mama em camundongos, a análise do TME demonstrou que células dendríticas se correlacionaram simultaneamente com células T CD4+ e T CD8+, enriquecendo o TME com ambas as células inflamatórias (MATTIUZ *et al.*, 2021), conforme encontrado nesse estudo com mulheres com câncer de mama.

Em modelos animais demonstrou-se que nos estádios iniciais do tumor de mama as células T CD4+ de fenótipo Th1 eram mais numerosas, e nos mais avançados as Tregs e Th17 eram as predominantes. Os Linfócitos T CD8+ correlacionaram-se à imunidade antitumoral eficaz, e na detecção de Linfócitos T CD4+ intratumorais o prognóstico foi pior (HUANG *et al.*, 2015). Em análise do TME de outra série as portadoras de tumores Luminal A recidivadas expressavam TILs mais baixo, em geral, com baixa expressão de células T CD8+ e CD4+FOXP3+ no tumor primário, e nas metástases posteriores, em comparação com o grupo controle de pacientes com tumores Luminais A que não recidivou, e que apresentaram o TME significativamente mais infiltrado por TILs, formado predominantemente por células T CD8+ (ZEPPELLINI *et al.*, 2021).

Quando se analisou a maior expressão, acima de 10%, de infiltrado de Linfócitos T FOXP3+ no TME das participantes desse estudo observou-se correlação significativa com maior risco de metástases. Esse resultado está de acordo com outra casuística de mulheres com câncer de mama (XU; LAN; ZHENG, 2018). Outro estudo, no entanto, evidenciou que as pacientes com alta expressão de células T CD4+ ou CD8+ no infiltrado tumoral da mama, apresentaram maior comprometimento linfonodal e pior SG (MATKOWSKI *et al.*, 2009). Mas na análise por subtipo de tumor de mama podem ser observados outros resultados, como o achado em mulheres com tumores TN que demonstrou que tanto a expressão de células T CD4+ e T CD8+, intratumoral ou estromal, foi fator independente de melhor prognóstico, comparados com a ausência desta expressão inflamatória (MATSUMOTO *et al.*, 2016). A análise mais correta seria não agrupar todas as pacientes com câncer de mama nesta avaliação, mas mensurar o infiltrado inflamatório nos diferentes subtipos conforme a IH. O baixo número de pacientes nesse estudo com análise do TME, provavelmente não evidenciou o prognóstico em todos os subtipos tumorais.

Em portadoras de tumores TN, sugere-se a análise da localização, no TME, das células inflamatórias, sendo que altos níveis de T CD8+ intratumoral e de T CD4+ estromal relacionou-se significativamente com maior sobrevida (MATSUMOTO *et al.*, 2016). Em mulheres com câncer de mama HER2+, em tratamento neoadjuvante com o trastuzumabe, percebeu-se que mudanças nesse infiltrado trazem benefícios prognósticos às pacientes com maior expressão de células T CD4+, T CD8+ e FOXP3+ no TME da mama residual, em comparação à biópsia inicial (ITOI *et al.*, 2019). Apesar dos achados controversos, em geral, o TME com maior expressão de TILs é melhor do que a baixa expressão, e dentre estas células que compõem o TIL a hiperexpressão de Linfócitos T CD8+ e a hipopressão de T CD4+ indicaria melhor prognóstico.

Analisou-se nesse estudo a expressão no TME de células do infiltrado tumoral, como os Linfócitos T CD8+ e CD4+, mas não foram incluídas as células T auxiliares, as células B ou NK, consideradas antitumorais. Não se analisou a expressão de macrófagos, Neutrófilos associados a tumores ou MDSCs, mas apenas as células T FOXP3+, consideradas pró-tumorais. Este universo de células inflamatórias é bem mais extenso, associado a imensa heterogeneidade e plasticidade, sendo capaz de ação divergente conforme sua ativação e o microambiente circundante (BOISSON *et al.*, 2021; WU, S. Z. *et al.*, 2021). A imunovigilância do câncer geralmente depende de programas imunes adaptativos executados por células T CD8+. Mas as células T CD8+ podem falhar no controle da tumorigênese precoce, como demonstrado em camundongo com câncer de mama Luminal B, com sugestão de que as células NK podem desempenhar um papel predominante neste cenário (BUQUE *et al.*, 2020).

Na análise do TME das pacientes desse estudo notou-se correlação inversa e significativa nos tumores RE+ com a menor expressão de Linfócitos T FOXP3+; e outra correlação direta, e

significativa, entre o Ki67 e o FOXP3, dois marcadores de pior prognóstico. Essa correlação inversa da expressão do FOXP3 com os receptores hormonais foi replicada em outro estudo (STANTON; ADAMS; DISIS, 2016). Em geral há menor expressão de TILs nos Luminais (CHEN, Y. *et al.*, 2021), e maior expressão de Linfócitos T FOXP3+ naquelas HER2+ e TN, e uma relação inversa dessa expressão nos tumores RE+ (MENG *et al.*, 2018; PENG *et al.*, 2019). Em uma meta-análise encontrou-se que a alta infiltração de células T FOXP3+ está associada ao pior prognóstico para os tumores de mama RE+, mas não naquelas RE negativo (QIAN *et al.*, 2017).

Não foi possível analisar adequadamente as correlações entre o infiltrado inflamatório dos tumores das pacientes nesse estudo e a expressão das quimiocinas e citocinas séricas. As perdas de partes dos espécimes tumorais para a montagem do TMA impossibilitaram a maioria das análises estatísticas, uma vez que dos 116 casos selecionados para análise do TME foram elegíveis 85, que não coincidiram plenamente com os 81 que fizeram as análises da quimiocinas e citocinas séricas. A presença das células inflamatórias no TME é dependente de vários fatores. A migração de células T CD8+ e T CD4+ pode ocorrer pelos gradientes de CCL19, CCL21 e de Rantes/CCL5, e as células dendríticas também podem liberar MIG/CXCL9 e IP10/CXCL10, recrutando mais células T CXCR3+ CD8+. O recrutamento de células NK é conduzido por CX3CR1-CX3CL1 e CXCR3-CXCL9/CXCL10 /CXCL11, e o de DCs por XCR1-XCL1, CCR5-CCL4/CCL5 e CCR1-CCL4. As células Th1 e T CD8+ também podem ser recrutadas pelo eixo CXCR3-CXCL9/CXCL10/CXCL11 (OZGA; CHOW; LUSTER, 2021). As sinalizações das 13 quimiocinas séricas e os seus reflexos no TME não tiveram poder estatístico, provavelmente pelo reduzido número de casos, para demonstrar estas possíveis correlações.

As múltiplas vias inflamatórias não puderam ser identificadas, mas dentro dos resultados, encontrou-se uma correlação inversa entre os Linfócitos T FOXP3+ no TME e a IL-6 sérica. Sobre essa correlação há relatos conflitantes na literatura. Em análise de células tumorais de intestino demonstrou-se que a IL-6, secretada nas co-culturas das células cancerígenas e fibroblastos humanos, colaborou com o crescimento do tumor em camundongos BALB/c imunocompetentes, induzindo TME com menos TILs CD8+, mas com aumento de TILs FOXP3+ em tumores tratados com IL-6 (KATO *et al.*, 2018). Mas na análise das correlações de TNF- $\alpha$  e IL-6 e a expressão de FOXP3, na interface materno-fetal em um modelo murino suscetível de toxoplasmose congênita, demonstrou-se que os piores desfechos gestacionais foram associados a maior expressão de TNF- $\alpha$  e IL-6, com menor expressão de FOXP3 (SOUSA *et al.*, 2021). Ou seja, na hiperexpressão concomitante de mais que uma citocina pode haver alteração na expressão de FOXP3.

Há várias sinalizações modulando a relação destas citocinas. O TGF- $\beta$  pode induzir células murinas Treg FOXP3+, mas em combinação com IL-6 há redução da indução de atividades funcionais de FOXP3, em cultura celular (SAMANTA *et al.*, 2008). Na análise de citocinas, em sobrenadantes de culturas de células mononucleares periféricas, de pacientes com hanseníase, encontrou-se reduções nas células Treg FOXP3+ e no TGF- $\beta$ , mas aumento na IL-6 (SAINI *et al.*, 2016). Há a sugestão, em experimento *in vivo* em ratos, que a superexpressão de IL-6 inibe novas Tregs FOXP3+ induzíveis de células T virgens, mas não afetaria a função de Tregs naturais (FUJIMOTO *et al.*, 2011). Em modelos animais a IL-6, sinalizando pela via STAT3, seria um fator de mau prognóstico no câncer de mama, pois pode intensificar a transcrição, independente do receptor hormonal, induzindo metástases nos tumores RE+ (SIERSBÆK *et al.*, 2020). Mas detectou-se nessa casuística a correlação inversa entre a IL-6 e o FOXP3, que merece ser melhor estudada, ampliando a análise de outras citocinas que poderiam se correlacionar concomitantemente com as células T FOXP3+.

O infiltrado inflamatório no TME é capaz de agregar uma melhor perspectiva prognóstica aos pacientes com câncer. Isso já é realidade nos pacientes com câncer de intestino, na prática do dia a dia, onde o escore imunológico que é baseado na quantificação de Linfócitos CD3+ e CD8+ na borda e no centro do tumor, possibilita definir tumores com densidade baixa de células imunes (*Immunoscore* 0, e maior risco de recorrência) ou alta densidade (*Immunoscore* 4, com menor risco de recorrência). Este escore imunológico superou o sistema TNM clássico, na relevância prognóstica, nos estádios I, II e III nos tumores intestinais, como melhor predição de sobrevida livre de progressão (PAGÈS *et al.*, 2018). No câncer de mama inicial a alta densidade de Linfócitos CD3+ e CD8+ intratumoral ou marginais ao tumor foi associada a maior taxa de remissão completa patológica após a quimioterapia neoadjuvante (RAPOPORT *et al.*, 2022), mas ainda não se tem a formatação de um escore imunológico significativo e relevante para definir o prognóstico dessas pacientes.

#### 6.9.1 Particularidades do TME nos tumores Luminais B

Neste estudo encontrou-se diferença significativa na SG conforme a estratificação dos subtipos tumorais pela IH. As mulheres com tumores Luminal B viveram significativamente menos que as Luminal A e HER2+. E dentre as com o subtipo Luminal B conseguiu-se identificar um grupo de pior prognóstico conforme a expressão de algumas quimiocinas, discutido anteriormente, e também se identificou um grupo de pior evolução conforme a expressão de células inflamatórias no TME. Estas mulheres com tumores Luminal B e com a expressão de células T CD4+ maior de 30%, ou com a somatória de Linfócitos T CD4+ e T CD8+ maior que 75%

no TME, apresentaram significativamente, menor sobrevida global, em comparação àquelas com menor infiltração destes Linfócitos T.

As pacientes com câncer de mama apresentam pior evolução na baixa expressão de TILs, principalmente de células T CD8+, tanto no tumor primário quanto nas metástases (ZEPPELLINI *et al.*, 2021). Outros autores sugerem um agrupamento prognóstico, pela imunotipagem dos tumores de mama. As de imunotipo B apresentariam baixa expressão de células B, NK, T CD8, T CD4 de memória, com sobrevida significativamente inferior em comparação àquelas mulheres consideradas de imunotipo A, com alta expressão destas mesmas células (JIANG *et al.*, 2020). Dentre os subtipos de Linfócitos T CD4+ demonstrou-se que as T CD4+ virgens foram fatores de prognóstico negativo para pacientes com câncer de mama (LI, Y. *et al.*, 2020b), confirmando que no aumento da expressão de Linfócitos T CD4, de acordo com o resultado desse estudo, ou na redução de células T CD8 no TME, há pior evolução das pacientes.

Há diferença biológica significativa na evolução das mulheres com tumores Luminal B, com necessidade de novos protocolos de tratamento. Pacientes com neoplasia Luminal B apresentaram, em outro estudo, maior proporção de recorrência local e metástase óssea em comparação com pacientes com câncer de mama não Luminal, sendo que as diferenças comportamentais deste tumor são reflexos de expressões genéticas distintas, que também modulam o infiltrado inflamatório do TME (LI *et al.*, 2016). As portadoras de tumores Luminal B, com alta infiltração de células inflamatórias no TME, deveriam receber novos protocolos mais agressivos, com inclusão de inibidores do *checkpoint* imunológico. Mas tais imunoterápicos não são disponibilizados pelo Sistema Único de Saúde do Brasil, sendo que essas pacientes receberam a quimioterapia e/ou a endocrinoterapia. A oferta deste tratamento não ideal, provavelmente, impactou negativamente nesta sobrevida. A extensão do infiltrado de TILs é variável entre os subtipos de câncer de mama, e identifica os tumores mais responsivos à imunomodulação (STANTON; ADAMS; DISIS, 2016).

Em geral os tumores do subtipo Luminal B apresentam menor resposta a quimioterapia neoadjuvante do que os tumores TN e HER2+ e o uso de inibidores do *checkpoint* imunológico, com o potencial de aumentar a taxa de resposta, pode ser menos eficaz no Luminal pela menor imunogenicidade (De CALUWÉ *et al.*, 2021). Mas no tumor Luminal B a seleção de pacientes, para o uso das drogas imunológicas, poderia ser daquelas com maior infiltração de Linfócitos T CD4+ e CD8+, com maior risco de morte, como detectou-se nesse estudo. Esta proposta é respaldada pelo uso de imunoterapia neoadjuvante nestes tumores do subtipo B, que não apresentou melhora na sobrevida na análise de todas as pacientes, mas naquele subgrupo com maior expressão de genes relacionados ao sistema imunológico, indutores de infiltração mais

intensa de células T CD8, quimiocinas inflamatórias, macrófagos, dentre outros, houve maior taxa de resposta completa (CROSBY *et al.*, 2020).

Nos tumores de subtipo Luminal há um comportamento heterogêneo das células T CD8+, como as de memória residente no tecido (Trm). Em cultura celular foi demonstrado que um subconjunto de células Trm mantém a capacidade de degranulação aumentada, geralmente associado a melhor prognóstico, mas na presença de Tregs efetoras altamente supressivas, estas células CD8+ Trm perdem esta capacidade citotóxica, confirmando a plasticidade deste infiltrado inflamatório (LOSURDO *et al.*, 2021). E as respostas às ações de células T CD4 e CD8 são diferentes, dependente de sinalização muito diversificada. Por exemplo, a depleção do receptor do TGF- $\beta$  em células T CD4+, mas não em células T CD8+, reduz a vasculatura sanguínea, com hipóxia e morte das células cancerosas nestas regiões avasculares (LIU, M. *et al.*, 2020). Na alta expressão de Linfócitos T CD8+ no TME de mulheres com tumores Luminais, mas com alterações na via de sinalização PI3K, pode haver uma evolução desfavorável (SOBRAL-LEITE *et al.*, 2019). Esses são apenas alguns exemplos, de muitos outros, demonstrando a multiplicidade das vias regulatórias destas células inflamatórias do TME.

Considerando todos os TILs, sem discriminação do tipo celular inflamatório predominante no TME e o subtipo tumoral pela IH do câncer de mama, há controvérsias no prognóstico. Em pacientes orientais com tumores Luminal B, com expressão de TIL alta ou intermediária houve melhor prognóstico do que aquelas com TIL baixa (HONDA *et al.*, 2021). Mas na análise do TME de mulheres com câncer de mama, especificando o tipo de células inflamatórias, identificou-se que a alta infiltração de TIL com células CD4+ foi fator de bom prognóstico naquelas RH negativo, enquanto a alta razão de células T FOXP3+/T CD8+ foi considerada fator de mau prognóstico no subgrupo com RH+, especialmente naquelas Luminal A (CHUNG *et al.*, 2017).

Mas esta infiltração é extremamente heterogênea conforme a população estudada, pois reflete a sinalização de cerca de 360 genes relacionados com o infiltrado inflamatório do TME, que diferem dos sinalizadores do infiltrado de linfonodos axilares, onde 33 desses genes regulam de forma negativa e apenas 3 são positivas no microambiente dos linfonodos (POPEDA *et al.*, 2021). Sabe-se que os tumores Luminais podem expressar mais intensamente aIDO (ANURAG *et al.*, 2020), e que a IDO combinada com TILs pode refletir em pior prognóstico (WEI *et al.*, 2020). E mesmo nas pacientes com neoplasias já metastáticas há relato de assinatura imunológica diferente do TME conforme o subtipo tumoral. O número de TILs CD3+, CD8+, CD4+ e FOXP3+ mostrou-se diminuído nas metástases dos tumores TN em relação ao tumor primário, enquanto que apenas as células T CD8+ diminuíram nas metástases dos tumores Luminais (CIMINO-MATHEWS *et al.*, 2013).

Embora o câncer de mama possa ser considerado um tumor “frio” imunologicamente, em comparação ao melanoma ou ao câncer de pulmão, é importante estudar estas variações às vezes pouco perceptíveis, pois as análises atuais confirmam que tem valor prognóstico mensurar o TIL no TME, além de identificar os subtipos destas células inflamatórias e o local predominante deste infiltrado, se intratumoral ou peritumoral (SZEITZ *et al.*, 2022). E assim, caminha-se para um retrato imunológico de cada paciente, agregando valor prognóstico não apenas ao estadiamento TNM, mas principalmente aos subtipos tumorais conforme a IH. E naquelas pacientes com tumores Luminal B deve-se analisar criteriosamente esse TIL, e na hiperexpressão de Linfócitos T CD4+/FOXP3+ novas opções terapêuticas, como a inclusão de inibidores do *checkpoint* imunológico, seria o objetivo de futuros estudos clínicos.



## 7. CONCLUSÕES

O prognóstico do câncer de mama não pode ser avaliado apenas pelo estadiamento e subtipo tumoral. A doença é sistêmica e reflete as alterações de muitas vias metabólicas e de sinalizações do corpo da mulher. Esse estudo prospectivo translacional analisou as expressões de proteínas no soro, como quimiocinas e citocinas, e leucócitos periféricos, que se correlacionam com diversas características das pacientes e dos tumores, colaborando para a baixa ou alta agressividade da neoplasia. Os objetivos foram alcançados, pois demonstrou-se que o sistema imunológico é capaz de modular o tumor, e os métodos de detecção de quimiocinas e de células inflamatórias no TME são menos onerosas que os métodos tradicionais, e podem ser replicadas.

Dentre os 4 subtipos tumorais individualizados pela IH demonstrou-se que, um subgrupo de pacientes portadoras de tumores Luminal B, pode ser mais ardiloso e traiçoeiro, pois além das suas nuances histológicas e imuno-histoquímicas, foi o que mais interagiu com os perfis imunológicos analisados nestas mulheres. As portadoras de tumores Luminal B sofreram modulação pelo sangue periférico, conforme a razão NLR fosse maior que 2, mostraram-se mais agressivos conforme a expressão de quimiocinas séricas, como ENA78/CXCL5, MIG/CXCL9 e MIP1 $\beta$ /CCL4, e demonstraram que na alta infiltração tumoral de Linfócitos T podem adquirir comportamento de pior prognóstico. Tais resultados devem ser confirmados por novos estudos com um número maior de pacientes. Mas percebe-se que é possível melhorar a estratificação do prognóstico dessas pacientes com tumores do subtipo Luminal B, além do TNM e IH, tanto pelo hemograma, quanto pela análise sérica de quimiocinas, e/ou pelo infiltrado de Linfócitos T no tumor, abrindo novas possibilidades terapêuticas alvo-específicas, além da quimioterapia e endocrinoterapia.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>1</sup>

ABANGAN Jr., R. S. et al. MCP1 directs trafficking of hematopoietic stem cell-derived fibroblast precursors in solid tumor. **Am. J. Pathol.**, Philadelphia (United States), v. 176, n. 4, p. 1914-1926, Apr. 2010. doi: 10.2353/ajpath.2010.080839. PMID: 20167869.

ABRAHAMSSON, A.; RZEPECKA, A.; DABROSIN, C. Equal pro-inflammatory profiles of CCLs, CXCLs, and matrix metalloproteinases in the extracellular microenvironment in vivo in human dense breast tissue and breast cancer. **Front. Immunol.**, Lausanne (Switzerland), v. 8, p. 1994, Jan. 2018. doi: 10.3389/fimmu.2017.01994. PMID: 29387062.

ABUBAKAR, M. et al. Combined quantitative measures of ER, PR, HER2, and Ki67 provide more prognostic information than categorical combinations in luminal breast cancer. **Mod. Pathol.**, New York (United States), v. 32, n. 9, p. 1244-1256, Sept. 2019. doi: 10.1038/s41379-019-0270-4. PMID: 30976105.

ACHARYYA, S. et al. A CXCL1 paracrine network links cancer chemoresistance and metastasis. **Cell**, Cambridge (United States), v. 150, n. 1, p. 165-178, July 2012. doi: 10.1016/j.cell.2012.04.042. PMID: 22770218.

ACHEAMPONG, T. et al. Incidence trends of breast cancer molecular subtypes by age and race/ethnicity in the US from 2010 to 2016. **JAMA Netw. Open**, Chicago (United States), v. 3, n. 8, p. e2013226, Aug. 2020. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.13226. PMID: 32804214.

ACOSTA, J. C. et al. Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence. **Cell**, Cambridge (United States), v. 133, n. 6, p. 1006-1018, June 2008. doi: 10.1016/j.cell.2008.03.038. PMID: 18555777.

ADAMS, S. et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199. **J. Clin. Oncol.**, Alexandria (United States), v. 32, n. 27, p. 2959-2966, Sept. 2014. doi: 10.1200/JCO.2013.55.0491. PMID: 25071121.

ADES, F. et al. Luminal B breast cancer: molecular characterization, clinical management, and future perspectives. **J. Clin. Oncol.**, Alexandria (United States), v. 32, n. 25, p. 2794-2803, Sept. 2014. doi: 10.1200/JCO.2013.54.1870. PMID: 25049332.

ADLER, E. P. et al. A dual role for tumor-derived chemokine RANTES (CCL5). **Immunol. Lett.**, Amsterdam (Netherlands), v. 90, n. 2-3, p. 187-194, Dec. 2003. doi: 10.1016/j.imlet.2003.09.013. PMID: 14687724.

AHTIAINEN, M. et al. Age and estrogen-based hormone therapy affect systemic and local IL-6 and IGF-1 pathways in women. **Age**, Dordrecht (Netherlands), v. 34, n. 5, p. 1249-1260, Oct. 2012. doi: 10.1007/s11357-011-9298-1. PMID: 21845403.

ALASSAF, E.; MUELLER, A. The role of PKC in CXCL8 and CXCL10 directed prostate, breast and leukemic cancer cell migration. **Eur. J. Pharmacol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 886, p. 173453, Nov. 2020. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173453. PMID: 32777211.

---

<sup>1</sup> De acordo com a NBR-6023 de novembro de 2018.

- ALI, H. R. et al. Association between CD8+ T-cell infiltration and breast cancer survival in 12,439 patients. **Ann. Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 25, n. 8, p. 1536-1543, Aug. 2014. doi: 10.1093/annonc/mdu191. PMID: 24915873.
- ALI, S.; LAZENNEC, G. Chemokines: novel targets for breast cancer metastasis. **Cancer Metastasis Rev.**, The Hague (Netherlands), v. 26, n. 3-4, p. 401-420, Dec. 2007. doi: 10.1007/s10555-007-9073-z. PMID: 17717637.
- AMBADE, A. et al. Pharmacological inhibition of CCR2/5 signaling prevents and reverses alcohol-induced liver damage, steatosis, and inflammation in mice. **Hepatology**, Hoboken (United States), v. 69, n. 3, p. 1105-1121, Mar. 2019. doi: 10.1002/hep.30249. PMID: 30179264.
- ANDRADE, V. P. de. et al. O arranjo em matriz de amostras teciduais (tissue microarray): larga escala e baixo custo ao alcance do patologista. [Tissue microarrays: high throughput and low cost available for pathologists]. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro (Brasil), v. 43, n. 1, p. 55-60; fev. 2007. doi: org/10.1590/S1676-24442007000100011.
- ANURAG, M. et al. Immune checkpoint profiles in luminal B breast cancer (Alliance). **J. Natl. Cancer Inst.**, Cary (United States), v. 112, n. 7, p. 737-746, July 2020. doi: 10.1093/jnci/djz213. PMID: 31665365.
- ARAS, S.; ZAIDI, M. R. TAMEless traitors: macrophages in cancer progression and metastasis. **Br. J. Cancer**, London (England), v. 117, n. 11, p. 1583-1591, Nov. 2017. doi: 10.1038/bjc.2017.356. PMID: 29065107.
- ARAUJO, J. M. et al. Effect of CCL5 expression in the recruitment of immune cells in triple negative breast cancer. **Sci. Rep.**, London (England), v. 8, n. 1, p. 4899, Mar. 2018. doi: 10.1038/s41598-018-23099-7. PMID: 29559701.
- ARAÚJO, R. A. et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) expression in the serum of patients with triple-negative breast carcinoma: prognostic value of this biomarker. **Eccancermedicalscience**, Bristol (England), v. 16, p. 1431, July 2022. doi: 10.3332/ecancer.2022.1431. PMID: 36158981.
- ARAÚJO, R. A. et al. Operable breast cancer: how not to worsen the prognosis, especially in triple negative and stage II tumors. **Surg. Oncol.**, Oxford (England), v. 38, p. 101596, Sept. 2021. doi: 10.1016/j.suronc.2021.101596. PMID: 34015750.
- ARIYARATHNA, H. et al. Chemokine gene expression influences metastasis and survival time of female dogs with mammary carcinoma. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 227, p. 110075, Sept. 2020. doi: 10.1016/j.vetimm.2020.110075. PMID: 32590239.
- ASSELIN-LABAT, M.-L. et al. Gata-3 is an essential regulator of mammary-gland morphogenesis and luminal-cell differentiation. **Nat. Cell Biol.**, London (England), v. 9, n. 2, p. 201-209, Feb. 2007. doi: 10.1038/ncb1530. PMID: 17187062.
- AUTENSHLYUS, A. et al. Cytokines in various molecular subtypes of breast cancer. **Int. J. Immunopathol. Pharmacol.**, London (England), v. 35, p. 20587384211034089, Jan.-Dec. 2021. doi: 10.1177/20587384211034089. PMID: 34399595.

- AUTENSHLYUS, A. et al. Effects of polyclonal activators on cell differentiation and cytokine production of cultured invasive breast carcinoma of no special type, their association with tumour histopathological parameters and lymph node metastasis. **Int. J. Immunopathol. Pharmacol.**, London (England), v. 34, p. 2058738420950580, Jan.-Dec. 2020. doi: 10.1177/2058738420950580. PMID: 33100082.
- AZENSHTTEIN, E. et al. The angiogenic factors CXCL8 and VEGF in breast cancer: regulation by an array of pro-malignancy factors. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 217, n. 1, p. 73-86, Jan. 2005. doi: 10.1016/j.canlet.2004.05.024. PMID: 15596298.
- AZENSHTTEIN, E. et al. The CC chemokine RANTES in breast carcinoma progression: regulation of expression and potential mechanisms of promalignant activity. **Cancer Res.**, Chicago (United States), v. 62, n. 4, p. 1093-1102, Feb. 2002. PMID: 11861388.
- BACH, K. et al. Time-resolved single-cell analysis of Brca1 associated mammary tumourigenesis reveals aberrant differentiation of luminal progenitors. **Nat. Commun.**, London (England), v. 12, n. 1, p. 1502, Mar. 2021. doi: 10.1038/s41467-021-21783-3. PMID: 33686070.
- BAGHEL, K. S. et al. Macrophages promote matrix protrusive and invasive function of breast cancer cells via MIP-1 $\beta$  dependent upregulation of MYO3A gene in breast cancer cells. **Oncoimmunology**, Philadelphia (United States), v. 5, n. 7, p. e1196299, July 2016. doi: 10.1080/2162402X.2016.1196299. PMID: 27622050.
- BAGNARDI, V. et al. Light alcohol drinking and cancer: a meta-analysis. **Ann. Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 24, n. 2, p. 301-308, Feb. 2013. doi: 10.1093/annonc/mds337. PMID: 22910838.
- BALTUS, T. et al. Oligomerization of Rantes is required for CCR1-mediated arrest but not CCR5-mediated transmigration of leukocytes on inflamed endothelium. **Blood**, New York (United States), v. 102, n. 6, p. 1985-1988, Sept. 2003. doi: 10.1182/blood-2003-04-1175. PMID: 12763925.
- BANDERA, E. V. et al. Association of body mass index, central obesity, and body composition with mortality among black breast cancer survivors. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 7, n. 8, p. 1-10, June 2021. doi: 10.1001/jamaoncol.2021.1499. PMID: 34086040.
- BARNARD, M. E.; BOEKE, C. E.; TAMIMI, R. M. Established breast cancer risk factors and risk of intrinsic tumor subtypes. **Biochim. Biophys. Acta**, Amsterdam (Netherlands), v. 1856, n. 1, p. 73-85, Aug. 2015. doi: 10.1016/j.bbcan.2015.06.002. PMID: 26071880.
- BASSEZ, A. et al. A single-cell map of intratumoral changes during anti-PD1 treatment of patients with breast cancer. **Nat. Med.**, New York (United States), v. 27, n. 5, p. 820-832, May 2021. doi: 10.1038/s41591-021-01323-8. PMID: 33958794.
- BECERRA-CHAUCA, N.; NIETO-GUTIERREZ, W.; TAYPE-RONDAN, A. 6-month or 12-month adjuvant trastuzumab regimen for HER-2-positive breast cancer? Decision-making in a resource-limited setting. **Lancet Oncol.**, London (England), v. 23, n. 3, p. e100, Mar. 2022. doi: 10.1016/S1470-2045(22)00060-2. PMID: 35240085.
- BEKAERT, S. et al. Asthma-related inflammation promotes lung metastasis of breast cancer cells through CCL11-CCR3 pathway. **Respir. Res.**, London (England), v. 22, n. 1, p. 61, Feb. 2021. doi: 10.1186/s12931-021-01652-9. PMID: 33608009.

BERDIEL-ACER, M. et al. Stromal NRG1 in luminal breast cancer defines pro-fibrotic and migratory cancer-associated fibroblasts. **Oncogene**, Basingstoke (England), v. 40, n. 15, p. 2651-2666, Apr. 2021. doi: 10.1038/s41388-021-01719-3. PMID: 33692466.

BHATIA, R. et al. Alcohol and smoking mediated modulations in adaptive immunity in pancreatitis. **Cells**, Basel (Switzerland), v. 9, n. 8, p. 1880, Aug. 2020. doi: 10.3390/cells9081880. PMID: 32796685.

BHATTACHARJEE, H. K. et al. Is interleukin 10 (IL10) expression in breast cancer a marker of poor prognosis? **Indian J. Surg. Oncol.**, New Delhi (India), v. 7, n. 3, p. 320-325, Sept. 2016. doi: 10.1007/s13193-016-0512-6. PMID: 27651693.

BIÈCHE, I. et al. CXC chemokines located in the 4q21 region are up-regulated in breast cancer. **Endocr. Relat. Cancer**, Woodlands (England), v. 14, n. 4, p. 1039-1052, Dec. 2007. doi: 10.1677/erc.1.01301. PMID: 18045955.

BLAAS, L. et al. Lgr6 labels a rare population of mammary gland progenitor cells that are able to originate luminal mammary tumours. **Nat. Cell Biol.**, London (England), v. 18, n. 12, p. 1346-1356, Dec. 2016. doi: 10.1038/ncb3434. PMID: 27798604.

BOCCHI, M. et al. Expression of Ki67 and p53 proteins: breast cancer aggressivity markers in brazilian young patients. **J. Adolesc. Young Adult Oncol.**, New Rochelle (United States), v. 10, n. 4, p. 379-388, Aug. 2021. doi: 10.1089/jayao.2020.0037. PMID: 32716670.

BOECKER, F. et al. TMAinspiration: decode interdependencies in multifactorial tissue microarray data. **Cancer Inform.**, Thousand Oaks (United States), v. 15, p. 143-149, June 2016. doi: 10.4137/CIN.S39112. PMID: 27398021.

BOFFETTA, P. et al. O6-alkylguanine-DNA-alkyltransferase activity in peripheral leukocytes, smoking and risk of lung cancer. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 180, n. 1, p. 33-39, June 2002. doi: 10.1016/s0304-3835(02)00014-9. PMID: 11911967.

BOISSON, A. et al. Fluorescent multiplex immunohistochemistry coupled with other state-of-the-art techniques to systematically characterize the tumor immune microenvironment. **Front. Mol. Biosci.**, Lausanne (Switzerland), v. 8, p. 673042, Sept. 2021. doi: 10.3389/fmolb.2021.673042. PMID: 34621785.

BONAPACE, L. et al. Cessation of CCL2 inhibition accelerates breast cancer metastasis by promoting angiogenesis. **Nature**, London (England), v. 515, n. 7525, p. 130-133, Nov. 2014. doi: 10.1038/nature13862. PMID: 25337873.

BONECHI, E. et al. Increased CXCL10 expression in MS MSCs and monocytes is unaffected by AHSCT. **Ann. Clin. Transl. Neurol.**, Hoboken (United States), v. 1, n. 9, p. 650-658, Sept. 2014. doi: 10.1002/acn3.92. PMID: 25493279.

BOSE, S. Triple-negative breast carcinoma: morphologic and molecular subtypes. **Adv. Anat. Pathol.**, Hagerstown (United States), v. 22, n. 5, p. 306-313, Sept. 2015. doi: 10.1097/PAP.0000000000000084. PMID: 26262513.

BOUCHET, M. et al. ERR $\alpha$  expression in bone metastases leads to an exacerbated antitumor immune response. **Cancer Res.**, Chicago (United States), v. 80, n. 13, p. 2914-2926, July 2020. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-3584. PMID: 32366476.

- BOZIC, T. et al. Gene electrotransfer of proinflammatory chemokines CCL5 and CCL17 as a novel approach of modifying cytokine expression profile in the tumor microenvironment. **Bioelectrochemistry**, Amsterdam (Netherlands), v. 140, p. 107795, Aug. 2021. doi: 10.1016/j.bioelechem.2021.107795. PMID: 33789177.
- BRANDOLINI, L. et al. Targeting CXCR1 on breast cancer stem cells: signaling pathways and clinical application modelling. **Oncotarget**, Albany (United States), v. 6, n. 41, p. 43375-43394, Dec. 2015. doi: 10.18632/oncotarget.6234. PMID: 26517518.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer – INCA. **Estimativa**. 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa>>. Acessado em: fev. 2023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Portaria conjunta n. 5, de 18 de abril de 2019. Aprova as **Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Carcinoma de Mama**. Com anexo: diretrizes diagnósticas e terapêuticas. Carcinoma de Mama. 2019. 39p. Disponível em: <[https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/protocolos/ddt/ddt-carcinoma-de-mama\\_portaria-conjunta-n-5.pdf](https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/protocolos/ddt/ddt-carcinoma-de-mama_portaria-conjunta-n-5.pdf)>. Acesso em 29 de set. 2022.
- BUQUE, A. et al. NK cells beat T cells at early breast cancer control. **Oncoimmunology**, Philadelphia (United States), v. 9, n. 1, p. 1806010, Aug. 2020. doi: 10.1080/2162402X.2020.1806010. PMID: 32923169.
- BURSTEIN, H. Systemic therapy for estrogen receptor-positive, HER2-negative breast cancer. **N. Engl. J. Med.**, Boston (United States), v. 383, n. 26, p. 2557-2570, Dec. 2020. doi: 10.1056/NEJMra1307118. PMID: 33369357.
- BYERS, L. A. et al. Serum signature of hypoxia-regulated factors is associated with progression after induction therapy in head and neck squamous cell cancer. **Mol. Cancer Ther.**, Philadelphia (United States), v. 9, n. 6, p. 1755-1763, June 2010. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-09-1047. PMID: 20530716.
- CANCELLO, G. et al. Progesterone receptor loss identifies luminal B breast cancer subgroups at higher risk of relapse. **Ann. Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 24, n. 3, p. 661-668, Mar. 2013. doi: 10.1093/annonc/mds430. PMID: 23022996.
- CARDOSO, F. et al. 4th ESO-ESMO international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 4). **Ann. Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 29, n. 8, p. 1634-1657, Aug. 2018. doi: 10.1093/annonc/mdy192. PMID: 30032243.
- CARDOSO, F. et al. 5th ESO-ESMO international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 5). **Ann. Oncol.**, London (England), v. 31, n. 12, p. 1623-1649, Dec. 2020. doi: 10.1016/j.annonc.2020.09.010. PMID: 32979513.
- CARDOSO, F. et al. Early breast cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. **Ann. Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 30, n. 8, p. 1194-1220, Aug. 2019. doi: 10.1093/annonc/mdz173. PMID: 31161190.
- CARRETERO, R. et al. Eosinophils orchestrate cancer rejection by normalizing tumor vessels and enhancing infiltration of CD8(+) T cells. **Nat. Immunol.**, New York (United States), v. 16, n. 6, p. 609-617, June 2015. doi: 10.1038/ni.3159. PMID: 25915731.

CASANOVA-ACEBES, M. et al. Tissue-resident macrophages provide a pro-tumorigenic niche to early NSCLC cells. **Nature**, Basingstoke (England), v. 595, n. 7868, p. 578-584, July 2021. doi: 10.1038/s41586-021-03651-8. PMID: 34135508.

CASTLE, S. C. et al. Age-related impaired proliferation of peripheral blood mononuclear cells is associated with an increase in both IL-10 and IL-12. **Exp. Gerontol.**, Oxford (England), v. 34, n. 2, p. 243-252, Apr. 1999. doi: 10.1016/s0531-5565(98)00064-3. PMID: 10363790.

CAVALIERI, E. L.; ROGAN, E. The etiology and prevention of breast cancer. **Drug Discov. Today Dis. Mech.**, Oxford (England), v. 9, n. 1-2, p. e55-e69, 2012. doi: 10.1016/j.ddmec.2013.02.001. PMID 26246832.

CHAVEY, C. et al. Oestrogen receptor negative breast cancers exhibit high cytokine content. **Breast Cancer Res.**, London (England), v. 9, n. 1, p. R15, 2007. doi: 10.1186/bcr1648. PMID: 17261184.

CHEANG, M. C. U. et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. **J. Natl. Cancer Inst.**, Bethesda (United States), v. 101, n. 10, p. 736-750, May 2009. doi: 10.1093/jnci/djp082. PMID: 19436038.

CHEN, D. et al. Role of cytokines and chemokines in alcohol-induced tumor promotion. **Oncotargets Ther.**, Auckland (New Zealand), v. 10, p. 1665-1671, Mar. 2017. doi: 10.2147/OTT.S129781. PMID: 28360527.

CHEN, K.-H. E. et al. Prolactin enhances T regulatory cell promotion of breast cancer through the long form prolactin receptor. **Transl. Oncol.**, Ann Arbor (United States), v. 14, n. 11, p. 101195, Nov. 2021. doi: 10.1016/j.tranon.2021.101195. PMID: 34375938.

CHEN, W. et al. CCL20 triggered by chemotherapy hinders the therapeutic efficacy of breast cancer. **PLoS Biol.**, San Francisco (United States), v. 16, n. 7, p. e2005869, July 2018. doi: 10.1371/journal.pbio.2005869. PMID: 30052635.

CHEN, Y. et al. Tumor-associated lymphocytes and macrophages are related to stromal elastosis and vascular invasion in breast cancer. **J. Pathol. Clin. Res.**, Oxford (England), v. 7, n. 5, p. 517-527, Sept. 2021. doi: 10.1002/cjp2.226. PMID: 34076969.

CHENG, N.-L. et al. MicroRNA-125b modulates inflammatory chemokine CCL4 expression in immune cells and its reduction causes CCL4 increase with age. **Aging Cell**, Oxford (England), v. 14, n. 2, p. 200-208, Apr. 2015. doi: 10.1111/ace1.12294. PMID: 25620312.

CHENG, R. et al. Periodontal inflammation recruits distant metastatic breast cancer cells by increasing myeloid-derived suppressor cells. **Oncogene**, Basingstoke (England), v. 39, n. 7, p. 1543-1556, Feb. 2020. doi: 10.1038/s41388-019-1084-z. PMID: 31685946.

CHIU, J.-H. et al. MEGF11 is related to tumour recurrence in triple negative breast cancer via chemokine upregulation. **Sci. Rep.**, London (England), v. 10, n. 1, p. 8060, May 2020. doi: 10.1038/s41598-020-64950-0. PMID: 32415115.

CHUNG, Y. R. et al. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocyte subsets in breast cancer depends on hormone receptor status. **Breast Cancer Res. Treat.**, The Hague (Netherlands), v. 161, n. 3, p. 409-420, Feb. 2017. doi: 10.1007/s10549-016-4072-9. PMID: 27913931.

CIMINO-MATHEWS, A. et al. Metastatic triple-negative breast cancers at first relapse have fewer tumor-infiltrating lymphocytes than their matched primary breast tumors: a pilot study. **Hum. Pathol.**, Philadelphia (United States), v. 44, n. 10, p. 2055-2063, Oct. 2013. doi: 10.1016/j.humpath.2013.03.010. PMID: 23701942.

CIRQUEIRA, M. B. et al. Effect of Ki-67 on immunohistochemical classification of luminal A to luminal B subtypes of breast carcinoma. **Breast J.**, Cambridge (United States), v. 21, n. 5, p. 465-472, Sept.-Oct. 2015. doi: 10.1111/tbj.12441. PMID: 26138552.

COATES, A. S. 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. **Ann. Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 26, n. 8, p. 1533-1546, Aug. 2015. doi: 10.1093/annonc/mdv221. PMID: 25939896.

CONNOLLY, G. C. et al. Leukocytosis, thrombosis and early mortality in cancer patients initiating chemotherapy. **Thromb. Res.**, Elmsford (United States), v. 126, n. 2, p. 113-118, Aug. 2010. doi: 10.1016/j.thromres.2010.05.012. PMID: 20684071.

CRABB, S. J. et al. Basal breast cancer molecular subtype predicts for lower incidence of axillary lymph node metastases in primary breast cancer. **Clin. Breast Cancer**, Dallas (United States), v. 8, n. 3, p. 249-256, June 2008. doi: 10.3816/CBC.2008.n.028. PMID: 18650155.

CREIGHTON, C. J. The molecular profile of luminal B breast cancer. **Biologics**, Auckland (New Zealand), v. 6, p. 289-297, 2012. doi: 10.2147/BTT.S29923. PMID: 22956860.

CRONIN, M. et al. Analytical validation of the oncoType DX genomic diagnostic test for recurrence prognosis and therapeutic response prediction in node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. **Clin. Chem.**, Baltimore (United States), v. 53, n. 6, p. 1084-1091, June 2007. doi: 10.1373/clinchem.2006.076497. PMID: 17463177.

CROSBY, E. J. et al. Stimulation of oncogene-specific tumor-infiltrating T cells through combined vaccine and  $\alpha$ PD-1 enable sustained antitumor responses against established HER2 breast cancer. **Clin. Cancer Res.**, Denville (United States), v. 26, n. 17, p. 4670-4681, Sept. 2020. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-0389. PMID: 32732224.

CRUCERIU, D. et al. The dual role of tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) in breast cancer: molecular insights and therapeutic approaches. **Cell Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 43, n. 1, p. 1-18, Feb. 2020. doi: 10.1007/s13402-019-00489-1. PMID: 31900901.

Da LUZ, F. A. C. et al. The benefits of trastuzumab in the treatment of HER2+ breast cancer as a function of exposure time. **Ecancermedicalscience**, Bristol (England), v. 16, p. 1347, Jan. 2022. doi: 10.3332/ecancer.2022.1347. PMID: 35242228.

Da SILVA, J. M. et al. Relevance of CCL3/CCR5 axis in oral carcinogenesis. **Oncotarget**, Albany (United States), v. 8, n. 31, p. 51024-51036, Apr. 2017. doi: 10.18632/oncotarget.16882. PMID: 28881626.

DABITAO, D. et al. Multiplex measurement of proinflammatory cytokines in human serum: comparison of the Meso Scale Discovery electrochemiluminescence assay and the Cytometric Bead Array. **J. Immunol. Methods**, Amsterdam (Netherlands), v. 372, n. 1-2, p. 71-77, Sept. 2011. doi: 10.1016/j.jim.2011.06.033. PMID: 21781970.



De AMORIM, J. S. C. et al. Inflammatory markers associated with fall recurrence and severity: the Bambuí cohort study of aging. **Exp. Gerontol.**, Oxford (England), v. 132, p. 110837, Apr. 2020. doi: 10.1016/j.exger.2020.110837. PMID: 31935439.

De CALUWÉ, A. et al. Neo-checkRay: radiation therapy and adenosine pathway blockade to increase benefit of immuno-chemotherapy in early stage luminal B breast cancer, a randomized phase II trial. **BMC Cancer**, London (England), v. 21, n. 1, p. 899, Aug. 2021. doi: 10.1186/s12885-021-08601-1. PMID: 34362344.

De GREGORIO, A. et al. Ki67 as proliferative marker in patients with early breast cancer and its association with clinicopathological factors. **Oncology**, Basel (Switzerland), v. 99, n. 12, p. 780-789, 2021. doi: 10.1159/000517490. PMID: 34535596.

De La FUENTE LÓPEZ, M. et al. The relationship between chemokines CCL2, CCL3, and CCL4 with the tumor microenvironment and tumor-associated macrophage markers in colorectal cancer. **Tumour Biol.**, Tokyo (Japan), v. 40, n. 11, p. 1010428318810059, Nov. 2018. doi: 10.1177/1010428318810059. PMID: 30419802.

De MINGO PULIDO, Á. et al. TIM-3 regulates CD103<sup>+</sup> dendritic cell function and response to chemotherapy in breast cancer. **Cancer Cell**, Cambridge (United States), v. 33, n. 1, p. 60-74, Jan. 2018. doi: 10.1016/j.ccell.2017.11.019. PMID: 29316433.

DENKERT, C. et al. Reconstructing tumor history in breast cancer: signatures of mutational processes and response to neoadjuvant chemotherapy. **Ann. Oncol.**, London (England), v. 32, n. 4, p. 500-511, Apr. 2021. doi: 10.1016/j.annonc.2020.12.016. PMID: 33418062.

DENKERT, C. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy with or without carboplatin in human epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative primary breast cancers. **J. Clin. Oncol.**, Alexandria (United States), v. 33, n.9, p. 983-991, Mar. 2015. doi: 10.1200/JCO.2014.58.1967. PMID: 25534375.

DENKERT, C. et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. **Lancet Oncol.**, London (England), v. 19, n. 1, p. 40-50, Jan. 2018. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30904-x. PMID: 29233559.

DERHOVANESSIAN, E. et al. Immunity, ageing and cancer. **Immun. Ageing**, London (England), v. 5, p. 11, Sept. 2008. doi: 10.1186/1742-4933-5-11. PMID: 18816370.

DeSANTIS, C. E. et al. Breast cancer statistics, 2019. **CA Cancer J. Clin.**, New York (United States), v. 69, n. 6, p. 438-451, Nov. 2019. doi: 10.3322/caac.21583. PMID: 3157379.

DIECI, M. V. et al. Integrated evaluation of PAM50 subtypes and immune modulation of pCR in HER2-positive breast cancer patients treated with chemotherapy and HER2-targeted agents in the CherLOB trial. **Ann. Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 27, n.10, p. 1867-1873, Oct. 2016. doi: 10.1093/annonc/mdw262. PMID: 27484801.

DIECI, M. V. et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for triple-negative breast cancer: a retrospective multicenter study. **Ann. Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 25, n. 3, p. 611-618, Mar. 2014. doi: 10.1093/annonc/mdt556. PMID: 24401929.

DING, N.-H. et al. Prognostic factors for luminal B-like breast cancer. **Curr. Med. Sci.**, Wuhan (China), v. 39, n. 3, p. 396-402, June 2019. doi: 10.1007/s11596-019-2049-8. PMID: 31209809.

Dos ANJOS PULTZ, B. et al. Far beyond the usual biomarkers in breast cancer: a review. **J. Cancer**, Wyoming (Australia), v. 5, n. 7, p. 559-571, July 2014. doi: 10.7150/jca.8925. PMID: 25057307.

DRAKE, I. et al. Methodological considerations for identifying multiple plasma proteins associated with all-cause mortality in a population-based prospective cohort. **Sci. Rep.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 6734, Mar. 2021. doi: 10.1038/s41598-021-85991-z. PMID: 33762603.

DU, L. et al. Predicted sensitivity to endocrine therapy for stage II-III hormone receptor-positive and HER2-negative (HR+/HER2-) breast cancer before chemo-endocrine therapy. **Ann. Oncol.**, London (England), v. 32, n. 5, p. 642-651, May 2021. doi: 10.1016/j.annonc.2021.02.011. PMID: 33617937.

DUCKWORTH, B. C. et al. Effector and stem-like memory cell fates are imprinted in distinct lymph node niches directed by CXCR3 ligands. **Nat. Immunol.**, New York (United States), v. 22, n. 4, p. 434-448, Apr. 2021. doi: 10.1038/s41590-021-00878-5. PMID: 33649580.

DUFFY, M. J. et al. Clinical use of biomarkers in breast cancer: updated guidelines from the European Group on Tumor Markers (EGTM). **Eur. J. Cancer**, Oxford (England), v. 75, p. 284-298, Apr. 2017. doi: 10.1016/j.ejca.2017.01.017. PMID: 28259011.

DUFFY, M. J.; SYNNOTT, N. C.; CROWN, J. Mutant p53 in breast cancer: potential as a therapeutic target and biomarker. **Breast Cancer Res. Treat.**, The Hague (Netherlands), v. 170, n. 2, p. 213-219, July 2018. doi: 10.1007/s10549-018-4753-7. PMID: 29564741.

DUHAN, V.; SMYTH, M. J. Innate myeloid cells in the tumor microenvironment. **Curr. Opin. Immunol.**, London (England), v. 69, p. 18-28, Apr. 2021. doi: 10.1016/j.coi.2021.01.001. PMID: 33588308.

DWIVEDI, A.; KIELY, P. A.; HOEY, D. A. Mechanically stimulated osteocytes promote the proliferation and migration of breast cancer cells via a potential CXCL1/2 mechanism. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, San Diego (United States), v. 534, p. 14-20, Jan. 2021. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.12.016. PMID: 33310182.

EJAEIDI, A. et al. Hormone receptor-independent CXCL10 production is associated with the regulation of cellular factors linked to breast cancer progression and metastasis. **Exp. Mol. Pathol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 99, n. 1, p. 163-172, Aug. 2015. doi: 10.1016/j.yexmp.2015.06.002. PMID: 26079660.

ELGHONAIMY, E. et al. Secretome of tumor-associated leukocytes augment epithelial-mesenchymal transition in positive lymph node breast cancer patients via activation of EGFR/Tyr845 and NF- $\kappa$ B/p65 signaling pathway. **Tumour Biol.**, Tokyo (Japan), v. 37, n. 9, p. 12441-12453, Sept. 2016. doi: 10.1007/s13277-016-5123-x. PMID: 27329104.

ELSHAL, M.; McCOY, J. P. Multiplex bead array assays: performance evaluation and comparison of sensitivity to ELISA. **Methods**, San Diego (United States), v. 38, n. 4, p. 317-323, Apr. 2006. doi: 10.1016/j.ymeth.2005.11.010. PMID: 16481199.

EREZ, N. et al. Cancer-associated fibroblasts are activated in incipient neoplasia to orchestrate tumor-promoting inflammation in an NF-kappaB-dependent manner. **Cancer Cell**, Cambridge (United States), v. 17, n. 2, p. 135-147, Feb. 2010. doi: 10.1016/j.ccr.2009.12.041. PMID: 20138012.

ES, H. A. et al. Pirfenidone reduces epithelial-mesenchymal transition and spheroid formation in breast carcinoma through targeting cancer-associated fibroblasts (CAFs). **Cancers**, Basel (Switzerland), v. 13, n. 20, p. 5118, Oct. 2021. doi: 10.3390/cancers13205118. PMID: 34680267.

ESCOBAR, P. F. et al. The 2003 revised TNM staging system for breast cancer: results of stage re-classification on survival and future comparisons among stage groups. **Ann. Surg. Oncol.**, New York (United States), v. 14, n. 1, p. 143-147, Jan. 2007. doi: 10.1245/s10434-006-9147-0. PMID: 17058125.

ESSERMAN, L. J. et al. Use of molecular tools to identify patients with indolent breast cancers with ultralow risk over 2 decades. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 3, n. 11, p. 1503-1510, Nov. 2017. doi: 10.1001/jamaoncol.2017.1261. PMID: 28662222.

FAHY, O. L. et al. Control of Salmonella dissemination in vivo by macrophage inflammatory protein (MIP)-3alpha/CCL20. **Lab. Invest.**, New York (United States), v. 84, n. 11, p. 1501-1511, Nov. 2004. doi: 10.1038/labinvest.3700176. PMID: 15448707.

FANG, W. B. et al. Expression of CCL2/CCR2 signaling proteins in breast carcinoma cells is associated with invasive progression. **Sci. Rep.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 8708, Apr. 2021. doi: 10.1038/s41598-021-88229-0. PMID: 33888841.

FARMAKI, E. et al. Induction of the MCP chemokine cluster cascade in the periphery by cancer cell-derived Ccl3. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 389, p. 49-58, Mar. 2017. doi: 10.1016/j.canlet.2016.12.028. PMID: 28041977.

FILHO, O. M. et al. Association of immunophenotype with pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy for triple-negative breast cancer: a secondary analysis of the brithTNess phase 3 randomized clinical trial. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 7, n. 4, p. 603-608, Apr. 2021. doi: 10.1001/jamaoncol.2020.7310. PMID: 33599688.

FINSTERBUSCH, K. et al. Luminal A versus luminal B breast cancer: mammatyper mRNA versus immunohistochemical subtyping with an emphasis on standardised Ki67 labelling-based or mitotic activity index-based proliferation assessment. **Histopathology**, Oxford (England), v. 76, n. 5, p. 650-660, Apr. 2020. doi: 10.1111/his.14048. PMID: 31846096.

FOWELL, D. J.; KIM, M. The spatio-temporal control of effector T cell migration. **Nat. Rev. Immunol.**, London (England), v. 21, n. 9, p. 582-596, Sept. 2021. doi: 10.1038/s41577-021-00507-0. PMID: 33627851.

FRANZÉN, B. et al. Protein profiling of fine-needle aspirates reveals subtype-associated immune signatures and involvement of chemokines in breast cancer. **Mol. Oncol.**, Hoboken (United States), v. 13, n. 2, p. 376-391, Feb. 2019. doi: 10.1002/1878-0261.12410. PMID: 30451357.

- FRIDMAN, W. H. et al. Prognostic and predictive impact of intra- and peritumoral immune infiltrates. **Cancer Res.**, Chicago (United States), v. 71, n. 17, p. 5601-5605, Sept. 2011. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1316. PMID: 21846822.
- FUJIMOTO, M. et al. The influence of excessive IL-6 production in vivo on the development and function of Foxp3+ regulatory T cells. **J. Immunol.**, Baltimore (United States), v. 186, n. 1, p. 32-40, Jan. 2011. doi: 10.4049/jimmunol.0903314. PMID: 21106853.
- FUMAGALLI, D. et al. RNA sequencing to predict response to neoadjuvant anti-HER2 therapy: a secondary analysis of the NeoALTTO randomized clinical trial. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 3, n. 2, p. 227-234, Feb. 2017. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.3824. PMID: 27684533.
- GALES, D. et al. The chemokine CXCL8 in carcinogenesis and drug response. **ISRN Oncol.**, Cairo (Egypt), v. 2013, p. 859154, Oct. 2013. doi: 10.1155/2013/859154. PMID: 24224100.
- GANGELE, K. et al. Unraveling the evolutionary origin of ELR motif using fish CXC chemokine CXCL8. **Fish Shellfish Immunol.**, London (England), v. 93, p. 17-27, Oct. 2019. doi: 10.1016/j.fsi.2019.07.034. PMID: 31310848.
- GANTSEV, S. K. et al. The role of inflammatory chemokines in lymphoid neoorganogenesis in breast cancer. **Biomed. Pharmacother.**, New York (United States), v. 67, n. 5, p. 363-366, June 2013. doi: 10.1016/j.biopha.2013.03.017. PMID: 23602049.
- GARCÍA-VELASCO, J. A.; ARICI, A. Chemokines and human reproduction. **Fertil. Steril.**, New York (United States), v. 71, n. 6, p. 983-993, June 1999. doi: 10.1016/s0015-0282(99)00120-x. PMID: 10360897.
- GARG, A. D.; De RUYSSCHER, D.; AGOSTINIS, P. Immunological metagene signatures derived from immunogenic cancer cell death associate with improved survival of patients with lung, breast or ovarian malignancies: a large-scale meta-analysis. **Oncoimmunology**, Philadelphia (United States), v. 5, n. 2, p. e1069938, Aug. 2015. doi: 10.1080/2162402X.2015.1069938. PMID: 27057433.
- GERDES, J. et al. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. **Int. J. Cancer**, Genève (Switzerland), v. 31, n. 1, p. 13-20, Jan. 1983. doi: 10.1002/ijc.2910310104. PMID: 6339421.
- GIULIANO, S. et al. Resistance to lysosomotropic drugs used to treat kidney and breast cancers involves autophagy and inflammation and converges in inducing CXCL5. **Theranostics**, Wyoming (Australia), v. 9, n. 4, p. 1181-1199, Jan. 2019. doi: 10.7150/thno.29093. PMID: 30867824.
- GOCHER, A. M.; WORKMAN, C. J.; VIGNALI, D. A. A. Interferon- $\gamma$ : teammate or opponent in the tumour microenvironment? **Nat. Rev. Immunol.**, London (England), v. 22, n. 3, p. 158-172, Mar. 2022. doi: 10.1038/s41577-021-00566-3. PMID: 34155388.
- GOLDHIRSCH, A. et al. Strategies for subtypes - dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. **Ann. Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 22, n. 8, p. 1736-1747, Aug. 2011. doi: 10.1093/annonc/mdr304. PMID: 21709140.

GONÇALVES, A. et al. The CINSARC signature predicts the clinical outcome in patients with luminal B breast cancer. **NPJ Breast Cancer**, New York (United States), v. 7, n. 1, p. 48, May 2021. doi: 10.1038/s41523-021-00256-2. PMID: 33953185.

GONG, Z. et al. Innate immunity pathways and breast cancer risk in african american and european-american women in the women's circle of health study (WCHS). **PLoS One**, San Francisco (United States), v. 8, n. 8, p. e72619, Aug. 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0072619. PMID: 23991131.

GRABAU, D. A. et al. The importance of surgery and accurate axillary staging for survival in breast cancer. **Eur. J. Surg. Oncol.**, London (England), v. 24, n. 6, p. 499-507, Dec. 1998. doi: 10.1016/s0748-7983(98)93320-0. PMID: 9870724.

GRAMLICH, Y. et al. Oxidative stress in cardiac tissue of patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: the effects of overweight and obesity. **Oxid. Med. Cell Longev.**, New York (United States), v. 2018, p. 6598326, Dec. 2018. doi: 10.1155/2018/6598326. PMID: 30647815.

GRANOT, Z. et al. Tumor entrained neutrophils inhibit seeding in the premetastatic lung. **Cancer Cell**, Cambridge (United States), v. 20, n. 3, p. 300-314, Sept. 2011. doi: 10.1016/j.ccr.2011.08.012. PMID: 21907922.

GRASSADONIA, A. et al. Prognostic relevance of neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) in luminal breast cancer: a retrospective analysis in the neoadjuvant setting. **Cells**, Basel (Switzerland), v. 10, n. 7, p. 1685, July 2021. doi: 10.3390/cells10071685. PMID: 34359855.

GRISARU-TAL, S. et al. A new dawn for eosinophils in the tumour microenvironment. **Nat. Rev. Cancer**, London (United States), v. 20, n. 10, p. 594-607, Oct. 2020. doi: 10.1038/s41568-020-0283-9. PMID: 32678342.

GUO, K. et al. CXCR4 and CXCR3 are two distinct prognostic biomarkers in breast cancer: database mining for CXCR family members. **Mol. Med. Rep.**, Athens (Greece), v. 20, n. 6, p. 4791-4802, Dec. 2019. doi: 10.3892/mmr.2019.10784. PMID: 31702806.

HADADI, E. et al. Chronic circadian disruption modulates breast cancer stemness and immune microenvironment to drive metastasis in mice. **Nat. Commun.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 3193, June 2020. doi: 10.1038/s41467-020-16890-6. PMID: 32581213.

HAN, R. et al. Estrogen promotes progression of hormone-dependent breast cancer through CCL2-CCR2 axis by upregulation of twist via PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B signaling. **Sci. Rep.**, London (England), v. 8, n. 1, p. 9575, June 2018. doi: 10.1038/s41598-018-27810-6. PMID: 29934505.

HAO, J. et al. Improving prognosis of surrogate assay for breast cancer patients by absolute quantitation of ki67 protein levels using quantitative dot blot (QDB) method. **Front. Oncol.**, Lausanne (Switzerland), v. 11, p. 737781, Sept. 2021. doi: 10.3389/fonc.2021.737781. PMID: 34604077.

HAO, M. et al. Targeting CXCR7 improves the efficacy of breast cancer patients with tamoxifen therapy. **Biochem. Pharmacol.**, Oxford (England), v. 147, p. 128-140, Jan. 2018. doi: 10.1016/j.bcp.2017.11.013. PMID: 29175422.

HAO, W. et al. Increased chemokines levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease: correlation with quantitative computed tomography metrics. **Br. J. Radiol.**, London (England), v. 94, n. 1118, p. 20201030, Feb. 2021. doi: 10.1259/bjr.20201030. PMID: 33237823.

HARTMAN, Z. C. et al. Growth of triple-negative breast cancer cells relies upon coordinate autocrine expression of the proinflammatory cytokines IL-6 and IL-8. **Cancer Res.**, Chicago (United States), v. 73, n. 11, p. 3470-3480, June 2013. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4524-T. PMID: 23633491.

HARTMAN, Z. C. et al. HER2 overexpression elicits a proinflammatory IL-6 autocrine signaling loop that is critical for tumorigenesis. **Cancer Res.**, Chicago (United States), v. 71, n. 13, p. 4380-4391, July 2011. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-0308. PMID: 21518778.

HATTERMANN, K. et al. Effects of the chemokine CXCL12 and combined internalization of its receptors CXCR4 and CXCR7 in human MCF-7 breast cancer cells. **Cell Tissue Res.**, Berlin (Germany), v. 357, n. 1, p. 253-266, July 2014. doi: 10.1007/s00441-014-1823-y. PMID: 24770893.

HAUTH, F. et al. Radiotherapy to enhance chimeric antigen receptor T-cell therapeutic efficacy in solid tumors: a narrative review. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 7, n. 7, p. 1051-1059, July 2021. doi: 10.1001/jamaoncol.2021.0168. PMID: 33885725.

HECKEL, M. C. et al. Human breast tumor cells express IL-10 and IL-12p40 transcripts and proteins, but do not produce IL-12p70. **Cell Immunol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 266, n. 2, p. 143-153, 2011. doi: 10.1016/j.cellimm.2010.09.010. PMID: 21055733.

HERISHANU, Y. et al. Leukocytosis in obese individuals: possible link in patients with unexplained persistent neutrophilia. **Eur. J. Haematol.**, Oxford (England), v. 76, n. 6, p. 516-520, June 2006. doi: 10.1111/j.1600-0609.2006.00658.x. PMID: 16696775.

HILBORN, E. et al. C-X-C ligand 10 and C-X-C receptor 3 status can predict tamoxifen treatment response in breast cancer patients. **Breast Cancer Res. Treat.**, The Hague (Netherlands), v. 145, n. 1, p. 73-82, May 2014. doi: 10.1007/s10549-014-2933-7. PMID: 24715380.

HO, M.-F. et al. Estrogen, SNP-dependent chemokine expression and selective estrogen receptor modulator regulation. **Mol. Endocrinol.**, Baltimore (United States), v. 30, n. 3, p. 382-398, Mar. 2016. doi: 10.1210/me.2015-1267. PMID: 26866883.

HOLMER-JENSEN, J. et al. Differential effects of dietary protein sources on postprandial low-grade inflammation after a single high fat meal in obese non-diabetic subjects. **Nutr. J.**, London (England), v. 10, p. 115, Oct. 2011. doi: 10.1186/1475-2891-10-115. PMID: 22011432.

HONDA, C. et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in estrogen receptor-positive and human epidermal growth factor receptor 2-negative breast cancer. **Mol. Clin. Oncol.**, London (England), v. 15, n. 6, p. 252, Dec. 2021. doi: 10.3892/mco.2021.2414. PMID: 34671471.

HORTOBAGYI, G. N. et al. Breast. In: AMIN, MB et al. (Eds). **AJCC Cancer Staging Manual**. 8<sup>a</sup>. Ed., Chicago: Springer Cham, 2017. p. 589-636. doi: 10.1007/978-3-319-40618-3\_48.

HSU, Y.-L. et al. Breast tumor-associated osteoblast-derived CXCL5 increases cancer progression by ERK/MSK1/Elk-1/snail signaling pathway. **Oncogene**, Basingstoke (England), v. 32, n. 37, p. 4436-4447, Sept. 2013. doi: 10.1038/onc.2012.444. PMID: 23045282.

HU, C. et al. A population-based study of genes previously implicated in breast cancer. **N. Engl. J. Med.**, Boston (United States), v. 384, n. 5, p. 440-451, Feb. 2021. doi: 10.1056/NEJMoa2005936. PMID: 33471974.

- HU, G.-N. et al. Correlation between CCL4 gene polymorphisms and clinical aspects of breast cancer. **Int. J. Med. Sci.**, (Australia), v. 15, n. 11, p. 1179-1186, July 2018. doi: 10.7150/ijms.26771. PMID: 30123055.
- HUANG, B. et al. Osteoblasts secrete CXCL9 to regulate angiogenesis in bone. **Nat. Commun.**, London (England), v. 7, p. 13885, Dec. 2016. doi: 10.1038/ncomms13885. PMID: 27966526.
- HUANG, H.-C. et al. MicroRNA-142-3p and let-7g negatively regulates augmented IL-6 production in neonatal polymorphonuclear leukocytes. **Int. J. Biol. Sci.**, Lake Haven (Australia), v. 13, n. 6, p. 690-700, May 2017. doi: 10.7150/ijbs.17030. PMID: 28655995.
- HUANG, T. et al. Changes of EGFR and SMC4 expressions in triple-negative breast cancer and their early diagnostic value. **Gland. Surg.**, Hong Kong (China), v. 10, n. 3, p. 1118-1124, Mar. 2021. doi: 10.21037/gs-21-119. PMID: 33842255.
- HUANG, X. et al. Human chorionic gonadotropin promotes recruitment of regulatory T cells in endometrium by inducing chemokine CCL2. **J. Reprod. Immunol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 137, p. 102856, Feb. 2020. doi: 10.1016/j.jri.2019.102856. PMID: 31809964.
- HUANG, Y et al. CD4+ and CD8+ T cells have opposing roles in breast cancer progression and outcome. **Oncotarget**, Albany (United States), v. 6, n. 19, p. 17462-17478, July 2015. doi: 10.18632/oncotarget.3958. PMID: 25968569.
- HUESO, L. et al. Upregulation of angiostatic chemokines IP-10/CXCL10 and I-TAC/CXCL11 in human obesity and their implication for adipose tissue angiogenesis. **Int. J. Obes.**, London (England), v. 42, n. 8, p. 1406-1417, Aug. 2018. doi: 10.1038/s41366-018-0102-5. PMID: 29795466.
- HUO, D. et al. Comparison of breast cancer molecular features and survival by african and european ancestry in the cancer genome atlas. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 3, n. 12, p. 1654-1662, Dec. 2017. doi: 10.1001/jamaoncol.2017.0595. PMID: 28472234.
- HWANG, H. J. et al. Endothelial cells under therapy-induce senescence secrete CXCL11, which increases aggressiveness of breast cancer cells. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 490, p. 100-110, Oct. 2020. doi: 10.1016/j.canlet.2020.06.019. PMID: 32659248.
- IBRAHIM, S. A. et al. Syndecan-1 is a novel molecular marker for triple negative inflammatory breast cancer and modulates the cancer stem cell phenotype via the IL-6/STAT3, Notch and EGFR signaling pathways. **Mol. Cancer**, London (England), v. 16, n. 1, p. 57, Mar. 2017. doi: 10.1186/s12943-017-0621-z. PMID: 28270211.
- IOANNIDIS, L. J.; ERIKSSON, E.; HANSEN, D. S. CD14<sup>+</sup> monocytes are the main leucocytic sources of CXCL10 in response to *Plasmodium falciparum*. **Parasitology**, London (England), v. 147, n. 4, p. 465-470, Apr. 2020. doi: 10.1017/S0031182019001744. PMID: 31831089.
- ITOI, N. et al. Infiltration of CD4, CD8, CD56, and Fox-P3-positive lymphocytes in breast carcinoma tissue after neoadjuvant chemotherapy with or without trastuzumab. **Breast Dis.**, New York (United States), v. 38, n. 2, p. 57-65, 2019. doi: 10.3233/BD-180350. PMID: 31006655.
- JEHN, C. F. et al. Influence of age, performance status, cancer activity, and IL-6 on anxiety and depression in patients with metastatic breast cancer. **Breast Cancer Res. Treat.**, The Hague

(Netherlands), v. 136, n. 3, p. 789-794, Dec. 2012. doi: 10.1007/s10549-012-2311-2. PMID: 23124416.

JIANG, J. Tumour-infiltrating immune cell-based subtyping and signature gene analysis in breast cancer based on gene expression profiles. **J. Cancer**, Wyoming (Australia), v. 11, n. 6, p. 1568-1583, Jan. 2020. doi: 10.7150/jca.37637. PMID: 32047563.

JIANG, Q.-F. et al. 17 $\beta$ -estradiol promotes the invasion and migration of nuclear estrogen receptor-negative breast cancer cells through cross-talk between GPER1 and CXCR1. **J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.**, Oxford (England), v. 138, p. 314-324, Nov. 2013. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.07.011. PMID: 23907016.

JIN, K.; PANDEY, N. B.; POPEL, A. S. Simultaneous blockade of IL-6 and CCL5 signaling for synergistic inhibition of triple-negative breast cancer growth and metastasis. **Breast Cancer Res.**, London (England), v. 20, n. 1, p. 54, June 2018. doi: 10.1186/s13058-018-0981-3. PMID: 29898755.

JIN, P. et al. Interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  polarize bone marrow stromal cells uniformly to a Th1 phenotype. **Sci. Rep.**, London (England), v. 6, p. 26345, May 2016. doi: 10.1038/srep26345. PMID: 27211104.

JIN, W. J. et al. NF- $\kappa$ B signaling regulates cell-autonomous regulation of CXCL10 in breast cancer 4T1 cells. **Exp. Mol. Med.**, New York (United States), v. 49, n. 2, p. e295, Feb. 2017. doi: 10.1038/emm.2016.148. PMID: 28209986.

JULIUS, S. et al. In prehypertension leukocytosis is associated with body mass index but not with blood pressure or incident hypertension. **J. Hypertens.**, London (England), v. 32, n. 2, p. 251-259, Feb. 2014. doi: 10.1097/HJH.000000000000032. PMID: 24275841.

KARNOUB, A. E. et al. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. **Nature**, London (England), v. 449, n. 7162, p. 557-563, Oct. 2007. doi: 10.1038/nature06188. PMID: 17914389.

KATO, T. et al. Cancer-associated fibroblasts affect intratumoral CD8<sup>+</sup> and FoxP3<sup>+</sup> T cells via IL6 in the tumor microenvironment. **Clin. Cancer Res.**, Denville (United States), v. 24, n. 19, p. 4820-4833, Oct. 2018. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0205. PMID: 29921731.

KAUR, R. P. et al. Role of p53 gene in breast cancer: focus on mutation spectrum and therapeutic strategies. **Curr. Pharm. Des.**, Schiphol (Netherlands), v. 24, n. 30, p. 3566-3575, 2018. doi: 10.2174/1381612824666180926095709. PMID: 30255744.

KEENAN, T. et al. Comparison of the genomic landscape between primary breast cancer in african american versus white women and the Association of Racial Differences with Tumor Recurrence. **J. Clin. Oncol.**, Alexandria (United States), v. 33, n. 31, p. 3621-3627, Nov. 2015. doi: 10.1200/JCO.2015.62.2126. PMID: 26371147.

KEKLIKOGLOU, I. et al. Chemotherapy elicits pro-metastatic extracellular vesicles in breast cancer models. **Nat. Cell. Biol.**, London (England), v. 21, n. 2, p. 190-202, Feb. 2019. doi: 10.1038/s41556-018-0256-3. PMID: 30598531.



- KIM, S. et al. WNT5A augments cell invasiveness by inducing CXCL8 in HER2-positive breast cancer cells. **Cytokine**, Oxford (England), v. 135, p. 155213, Nov. 2020. doi: 10.1016/j.cyto.2020.155213. PMID: 32736336.
- KIM, Y.-J.; KIM, J. S.; KIM, I. A. Molecular subtype predicts incidence and prognosis of brain metastasis from breast cancer in SEER database. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, Berlin (Germany), v. 144, n. 9, p. 1803-1816, Sept. 2018. doi: 10.1007/s00432-018-2697-2. PMID: 29971531.
- KINOE, H. et al. Discordance of hormone receptor, human epidermal growth factor receptor-2, and Ki-67 between primary breast cancer and synchronous axillary lymph node metastasis. **J. BUON.**, Athens (Greece), v. 23, n. 7, p. 60-66, Dec. 2018. PMID: 30722113.
- KITAGAWA, Y. et al. Inhibition of CCL20 increases mortality in models of mouse sepsis with intestinal apoptosis. **Surgery**, St. Louis (United States), v. 154, n. 1, p. 78-88, July 2013. doi: 10.1016/j.surg.2013.02.012. PMID: 23601903.
- KIYOSAWA, H. et al. Cigarette smoking induces formation of 8-hydroxydeoxyguanosine, one of the oxidative DNA damages in human peripheral leukocytes. **Free Radic. Res. Commun.**, Chur (Switzerland), v. 11, n. 1-3, p. 23-27, 1990. doi: 10.3109/10715769009109664. PMID: 2074046.
- KOBAYASHI, T. et al. A simple immunohistochemical panel comprising 2 conventional markers, Ki67 and p53, is a powerful tool for predicting patient outcome in luminal-type breast cancer. **BMC Clin. Pathol.**, London (England), v. 13, p. 5, Feb. 2013. doi: 10.1186/1472-6890-13-5. PMID: 23384409.
- KORKAYA, H. et al. Activation of an IL6 inflammatory loop mediates trastuzumab resistance in HER2+ breast cancer by expanding the cancer stem cell population. **Mol. Cell**, Cambridge (United States), v. 47, n. 4, p. 570-584, Aug. 2012. doi: 10.1016/j.molcel.2012.06.014. PMID: 22819326.
- KOROBENIKOVA, E. et al. The prognostic value of IL10 and TNF alpha functional polymorphisms in premenopausal early-stage breast cancer patients. **BMC Genet.**, London (England), v. 16, p. 70, June 2015. doi: 10.1186/s12863-015-0234-8. PMID: 26112140.
- KRESOVICH, J. et al. Methylation-based biological age and breast cancer risk. **J. Natl. Cancer Inst.**, Bethesda (United States), v. 111, n. 10, p. 1051-1058, Oct. 2019. doi: 10.1093/jnci/djz020. PMID: 30794318.
- KUBO, T. et al. p63 induces CD4+ T-cell chemoattractant TARC/CCL17 in human epithelial cells. **J. Interferon Cytokine Res.**, New York (United States), v. 28, n. 12, p. 725-732, Dec. 2008. doi: 10.1089/jir.2008.0035. PMID: 18937546.
- KUSTIC, D. et al. Impact of HER2 receptor status on axillary nodal burden in patients with non-luminal A invasive ductal breast carcinoma. **Rev. Med. Chil.**, Santiago (Chile), v. 147, n. 5, p. 557-567, May 2019. doi: 10.4067/S0034-98872019000500557. PMID: 31859887.
- KWON, H. W. et al. Clustering subtypes of breast cancer by combining immunohistochemistry profiles and metabolism characteristics measured using FDG PET/CT. **Cancer Imaging**, London (England), v. 21, n. 1, p. 55, Sept. 2021. doi: 10.1186/s40644-021-00424-4. PMID: 34579791.
- LADÁNYI, A. Prognostic and predictive significance of immune cells infiltrating cutaneous melanoma. **Pigment. Cell Melanoma Res.**, Oxford (England), v. 28, n. 5, p. 490-500, Sept. 2015. doi: 10.1111/pcmr.12371. PMID: 25818762.

LÆNKHOLM, A.-V. et al. PAM50 risk of recurrence score predicts 10-year distant recurrence in a comprehensive danish cohort of postmenopausal women allocated to 5 years of endocrine therapy for hormone receptor-positive early breast cancer. **J. Clin. Oncol.**, Alexandria (United States), v. 36, n. 8, p. 735-740, Mar. 2018. doi: 10.1200/JCO.2017.74.6586. PMID: 29369732.

LAKSHMIKANTH, T. et al. Human immune system variation during 1 year. **Cell Rep.**, Cambridge (United States), v. 32, n. 3, p. 107923, July 2020. doi: 10.1016/j.celrep.2020.107923. PMID: 32697987.

LANG, J. M. et al. A flexible multiplex bead-based assay for detecting germline CDKN2A and CDK4 variants in melanoma-prone kindreds. **J. Invest. Dermatol.**, Baltimore (United States), v. 131, n. 2, p. 480-486, Feb. 2011. doi: 10.1038/jid.2010.331. PMID: 21085193.

LAVENDER, N. et al. The Yin/Yan of CCL2: a minor role in neutrophil anti-tumor activity in vitro but a major role on the outgrowth of metastatic breast cancer lesions in the lung in vivo. **BMC Cancer**, London (England), v. 17, n. 1, p. 88, Jan. 2017. doi: 10.1186/s12885-017-3074-2. PMID: 28143493.

LEE, S. et al. Tumor-associated macrophages secrete CCL2 and induce the invasive phenotype of human breast epithelial cells through upregulation of ERO1- $\alpha$  and MMP-9. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 437, p. 25-34, Nov. 2018. doi: 10.1016/j.canlet.2018.08.025. PMID: 30165193.

LEE, S. K. et al. Human antigen R-regulated CCL20 contributes to osteolytic breast cancer bone metastasis. **Sci. Rep.**, London (England), v. 7, n. 1, p. 9610, Aug. 2017. doi: 10.1038/s41598-017-09040-4. PMID: 28851919.

LEE, W.-J. et al. Clinical significance of central obesity in laparoscopic bariatric surgery. **Obes. Surg.**, Oxford (England), v. 13, n. 6, p. 921-925, Dec. 2003. doi: 10.1381/096089203322618786. PMID: 14738683.

LEE, Y. J. et al. Temporal changes in immune cell composition and cytokines in response to chemoradiation in rectal cancer. **Sci. Rep.**, London (England), v. 8, n. 1, p. 7565, May 2018. doi: 10.1038/s41598-018-25970-z. PMID: 29765096.

LEVESQUE, L.; ROY, S.; SALAZAR, N. CXCR3 expression and genome-wide 3' splice site selection in the TCGA breast cancer cohort. **Life**, Basel (Switzerland), v. 11, n. 8, p. 746, July 2021. doi: 10.3390/life11080746. PMID: 34440489.

LI, J. et al. Down-regulation of CCL17 in cancer-associated fibroblasts inhibits cell migration and invasion of breast cancer through ERK1/2 pathway. **Cancer Manag. Res.**, Auckland (New Zealand), v. 11, p. 7439-7453, Aug. 2019. doi: 10.2147/CMAR.S211651. PMID: 31496803.

LI, J.-Y. et al. The chemokine receptor CCR4 promotes tumor growth and lung metastasis in breast cancer. **Breast Cancer Res. Treat.**, The Hague (Netherlands), v. 131, n. 3, p. 837-848, Feb. 2012. doi: 10.1007/s10549-011-1502-6. PMID: 21479551.

LI, L. et al. Peripheral blood leukocytes and platelets serve as prognostic factors in breast cancer. **Cancer Biother. Radiopharm.**, Larchmont (United States), v. 36, n. 2, p. 167-173, Mar. 2021. doi: 10.1089/cbr.2019.3032. PMID: 32608994.

- LI, S. et al. Mendelian randomization analyses of genetically predicted circulating levels of cytokines with risk of breast cancer. **NPJ Precis. Oncol.**, London (England), v. 4, p. 25, Sept. 2020. doi: 10.1038/s41698-020-00131-6. PMID: 32923685.
- LI, X. et al. A S100A14-CCL2/CXCL5 signaling axis drives breast cancer metastasis. **Theranostics**, Wyoming (Australia), v. 10, n. 13, p. 5687-5703, Apr. 2020. doi: 10.7150/thno.42087. PMID: 32483412.
- LI, Y. et al. Cellular heterogeneity map of diverse immune and stromal phenotypes within breast tumor microenvironment. **PeerJ.**, Corte Madera (United States), v. 8, p. e9478, July 2020b. doi: 10.7717/peerj.9478. PMID: 32728493.
- LI, Y. et al. Recent advances of transcriptomics and proteomics in triple-negative breast cancer prognosis assessment. **J. Cell Mol. Med.**, Oxford (England), v. 26, n. 5, p. 1351-1362, Mar. 2022. doi: 10.1111/jcmm.17124. PMID: 35150062.
- LI, Y. et al. Transcriptional expressions of CXCL9/10/12/13 as prognosis factors in breast cancer. **J. Oncol.**, Cairo (Egypt), v. 2020, p. 4270957, Sept. 2020a. doi: 10.1155/2020/4270957. PMID: 32963527.
- LI, Z.-H. et al. Luminal B breast cancer: patterns of recurrence and clinical outcome. **Oncotarget**, Albany (United States), v. 7, n. 40, p. 65024-65033, Oct. 2016. doi: 10.18632/oncotarget.11344. PMID: 27542253.
- LIAN, C.-L. et al. Triple-negative breast cancer outcomes: does AJCC 8th staging improve chemotherapy decision-making. **Breast**, Amsterdam (Netherlands), v. 59, p. 117-123, Oct. 2021. doi: 10.1016/j.breast.2021.06.009. PMID: 34229126.
- LIANG, Y. et al. CX3CL1 involves in breast cancer metastasizing to the spine via the Src/FAK signaling pathway. **J. Cancer**, Wyoming (Australia), v. 9, n. 19, p. 3603-3612, Sept. 2018. doi: 10.7150/jca.26497. PMID: 30310518.
- LIANG, Y.-K. et al. CXCL9 is a potential biomarker of immune infiltration associated with favorable prognosis in ER-negative breast cancer. **Front. Oncol.**, Lausanne (Switzerland), v. 11, p. 710286, Aug. 2021. doi: 10.3389/fonc.2021.710286. PMID: 34527583.
- LIGHTMAN, S.; CALDER, V. Is IL-10 a good target to inhibit choroidal neovascularisation in age-related macular disease? **PLoS Med.**, San Francisco (United States), v. 3, n. 8, p. e364, Aug. 2006. doi: 10.1371/journal.pmed.0030364. PMID: 16903781.
- LIM, E. et al. Aberrant luminal progenitors as the candidate target population for basal tumor development in BRCA1 mutation carriers. **Nat. Med.**, New York (United States), v. 15, n. 8, p. 907-913, Aug. 2009. doi: 10.1038/nm.2000. PMID: 19648928.
- LIU, J. et al. The IRENA lncRNA converts chemotherapy-polarized tumor-suppressing macrophages to tumor-promoting phenotypes in breast cancer. **Nat. Cancer**, London (England), v. 2, n. 4, p. 457-473, Apr. 2021. doi: 10.1038/s43018-021-00196-7. PMID: 35122000.
- LIU, K. et al. Structural basis of CXC chemokine receptor 2 activation and signalling. **Nature**, London (England), v. 585, n. 7823, p. 135-140, Sept. 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2492-5. PMID: 32610344.

LIU, M. et al. TGF- $\beta$  suppresses type 2 immunity to cancer. **Nature**, London (England), v. 587, n. 7832, p. 115-120, Nov. 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2836-1. PMID: 33087928.

LIU, Q. et al. The CXCL8-CXCR1/2 pathways in cancer. **Cytokine Growth Factor Rev.**, Oxford (England), v. 31, p. 61-71, Oct. 2016. doi: 10.1016/j.cytogfr.2016.08.002. PMID: 27578214.

LIU, X. et al. Digital gene expression profiling analysis and its application in the identification of genes associated with improved response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer.

**World J. Surg. Oncol.**, London (England), v. 16, n. 1, p. 82, Apr. 2018. doi: 10.1186/s12957-018-1380-z. PMID: 29685151.

LIU, Y. et al. Down-regulation of miR-29b in carcinoma associated fibroblasts promotes cell growth and metastasis of breast cancer. **Oncotarget**, Albany (United States), v. 8, n. 24, p. 39559-39570, June 2017. doi: 10.18632/oncotarget.17136. PMID: 28465475.

LIU, Y.; NGUYEN, N.; COLDITZ, G. A. Links between alcohol consumption and breast cancer: a look at the evidence. **Womens Health**, London (England), v. 11, n. 1, p. 65-77, Jan. 2015. doi: 10.2217/whe.14.62. PMID: 25581056.

LIUBOMIRSKI, Y. et al. Tumor-stroma-inflammation networks promote pro-metastatic chemokines and aggressiveness characteristics in triple-negative breast cancer. **Front. Immunol.**, Lausanne (Switzerland), v. 10, p. 757, Apr. 2019. doi: 10.3389/fimmu.2019.00757. PMID: 31031757.

LOI, S. et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. **J. Clin. Oncol.**, Alexandria (United States), v. 31, n. 7, p. 860-867, Mar. 2013. doi: 10.1200/JCO.2011.41.0902. PMID: 23341518.

LOMBARDI, A. et al. Prognostic impact of the 8th edition of American Joint Committee on Cancer (AJCC) cancer staging system on clinically negative lymph nodes (cNo) breast cancer patients. **Breast J.**, Cambridge (United States), v. 26, n. 7, p. 1265-1269, July 2020. doi: 10.1111/tbj.13807. PMID: 32180300.

LONGDEN, J.; COOKE, E.-L.; HILL, S. J. Effect of CCR5 receptor antagonists on endocytosis of the human CCR5 receptor in CHO-K1 cells. **Br. J. Pharmacol.**, London (England), v. 153, n. 7, p. 1513-1527, Apr. 2008. doi: 10.1038/sj.bjp.0707691. PMID: 18223665.

LOSURDO, A. et al. Single-cell profiling defines the prognostic benefit of CD39<sup>high</sup> tissue resident memory CD8+ T cells in luminal-like breast cancer. **Commun. Biol.**, London (England), v. 4, n. 1, p. 1117, Sept. 2021. doi: 10.1038/s42003-021-02595-z. PMID: 34552178.

LUO, A. et al. Myeloid-derived suppressor cells recruited by chemokine (C-C motif) ligand 3 promote the progression of breast cancer via phosphoinositide 3-kinase-protein kinase B-mammalian target of rapamycin signaling. **J. Breast Cancer**, Seoul (Korea South), v. 23, n. 2, p. 141-161, Apr. 2020. doi: 10.4048/jbc.2020.23.e26. PMID: 32395374.

LV, J. et al. Prognosis of tumor microenvironment in luminal B-type breast cancer. **Dis. Markers**, New York (United States), v. 2022, p. 5621441, Feb. 2022. doi: 10.1155/2022/5621441. PMID: 35242245.

- LYON, D. E. et al. Health promoting life-style behaviors and systemic inflammation in african american and caucasian women prior to chemotherapy for breast cancer. **Health Promot. Perspect.**, Tabriz (Iran), v. 4, n. 1, p. 18-26, July 2014. doi: 10.5681/hpp.2014.003. PMID: 25097833.
- MA, K. et al. Th17 cells regulate the production of CXCL1 in breast cancer. **Int. Immunopharmacol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 56, p. 320-329, Mar. 2018. doi: 10.1016/j.intimp.2018.01.026. PMID: 29438938.
- MA, X. et al. Oncosuppressive role of MicroRNA-205-3p in gastric cancer through inhibition of proliferation and induction of senescence: oncosuppressive role of MicroRNA-205 in gastric cancer. **Transl. Oncol.**, Ann Arbor (United States), v. 14, n. 11, p. 101199, Nov. 2021. doi: 10.1016/j.tranon.2021.101199. PMID: 34388692.
- MA, Y. et al. IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  levels correlate with disease stage in breast cancer patients. **Adv. Clin. Exp. Med.**, Wroclaw (Poland), v. 26, n. 3, p. 421-426, May-June 2017. doi: 10.17219/acem/62120. PMID: 28791816.
- MAHESHWARI, A.; CHRISTENSEN, R. D.; CALHOUN, D. A. ELR+ CXC chemokines in human milk. **Cytokine**, Oxford (England), v. 24, n. 3, p. 91-102, Nov. 2003. doi: 10.1016/j.cyto.2003.07.002. PMID: 14581003.
- MANDAL, P. K. et al. CCL2 conditionally determines CCL22-dependent Th2-accumulation during TGF- $\beta$ -induced breast cancer progression. **Immunobiology**, Stuttgart (Netherlands), v. 223, n. 2, p. 151-161, Feb. 2018. doi: 10.1016/j.imbio.2017.10.031. PMID: 29107385.
- MAÑES, S. et al. CCR5 expression influences the progression of human breast cancer in a p53-dependent manner. **J. Exp. Med.**, New York (United States), v. 198, n. 9, p. 1381-1389, Nov. 2003. doi: 10.1084/jem.20030580. PMID: 14597737.
- MARCUZZI, E. et al. Chemokines and chemokine receptors: orchestrating tumor metastasization. **Int. J. Mol. Sci.**, Basel (Switzerland), v. 20, n. 1, p. 96, Dec. 2018. doi: 10.3390/ijms20010096. PMID: 30591657.
- MARQUES, C. S. et al. CXCR4 and its ligand CXCL12 display opposite expression profiles in feline mammary metastatic disease, with the exception of HER2-overexpressing tumors. **BMC Cancer**, London (England), v. 18, n. 1, p. 741, July 2018. doi: 10.1186/s12885-018-4650-9. PMID: 30012106.
- MARTÍNEZ-REZA, I.; DÍAZ, L.; GARCÍA-BECERRA, R. Preclinical and clinical aspects of TNF- $\alpha$  and its receptors TNFR1 and TNFR2 in breast cancer. **J. Biomed. Sci.**, London (England), v. 24, n. 1, p. 90, Dec. 2017. doi: 10.1186/s12929-017-0398-9. PMID: 29202842.
- MATKOWSKI, R. et al. The prognostic role of tumor-infiltrating CD4 and CD8 T lymphocytes in breast cancer. **Anticancer Res.**, Athens (Greece), v. 29, n. 7, p. 2445-2451, July 2009. PMID: 19596912.
- MATSUMOTO, H. et al. Increased CD4 and CD8-positive T cell infiltrate signifies good prognosis in a subset of triple-negative breast cancer. **Breast Cancer Res. Treat.**, The Hague (Netherlands), v. 156, n. 2, p. 237-247, Apr. 2016. doi: 10.1007/s10549-016-3743-x. PMID: 26960711.

- MATTIUZ, R. et al. Type 1 conventional dendritic cells and interferons are required for spontaneous CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T-cell protective responses to breast cancer. **Clin. Transl. Immunology**, Milton (Australia), v. 10, n. 7, p. e1305, July 2021. doi: 10.1002/cti2.1305. 34277006.
- McGUIRE, A. et al. Effects of age on the detection and management of breast cancer. **Cancers**, Basel (Switzerland), v. 7, n. 2, p. 908-929, May 2015. Doi: 10.3390/cancers7020815. PMID: 26010605.
- McMELLEN, M. E. et al. Epidermal growth factor receptor signaling modulates chemokine (CXC) ligand 5 expression and is associated with villus angiogenesis after small bowel resection. **Surgery**, St Louis (United States), v. 148, n. 2, p. 364-370, Aug. 2010. doi: 10.1016/j.surg.2010.03.020. PMID: 20471049.
- MENG, S. et al. Distribution and prognostic value of tumor-infiltrating T cells in breast cancer. **Mol. Med. Rep.**, Athens (Greece), v. 18, n. 5, p. 4247-4258, Nov. 2018. doi: 10.3892/mmr.2018.9460. PMID: 30221739.
- MIANJI, S. et al. Inhibition by dexamethasone of the lipopolysaccharide-induced increase in IL-6 mRNA abundance and IL-6 production in human polymorphonuclear leukocytes. **Int. J. Immunopharmacol.**, Oxford (England), v. 18, n. 5, p. 339-346, May 1996. doi: 10.1016/0192-0561(96)00020-3. PMID: 8933213.
- MIOSSEC, P.; KORN, T.; KUCHROO, V. K. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. **N. Engl. J. Med.**, Boston (United States), v. 361, n. 9, p. 888-898, Aug. 2009. doi: 10.1056/NEJMra0707449. PMID: 19710487.
- MITSUHASHI, N. et al. Rat chemokine CXCL11: structure, tissue distribution, function and expression in cardiac transplantation models. **Mol. Cell Biochem.**, The Hague (Netherlands), v. 296, n. 1-2, p. 1-9, Feb. 2007. doi: 10.1007/s11010-005-9010-9. PMID: 17264982.
- MIYAKE, M. et al. Expression of CXCL1 in human endothelial cells induces angiogenesis through the CXCR2 receptor and the ERK1/2 and EGF pathways. **Lab. Invest.**, New York (United States), v. 93, n. 7, p. 768-778, July 2013. doi: 10.1038/labinvest.2013.71. PMID: 23732813.
- MIYASHITA, M. et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating CD8<sup>+</sup> and FOXP3<sup>+</sup> lymphocytes in residual tumors and alterations in these parameters after neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer: a retrospective multicenter study. **Breast Cancer Res.**, London (England), v. 17, n. 1, p. 124, Sept. 2015. doi: 10.1186/s13058-015-0632-x. PMID: 26341640.
- MODI, W. S. et al. Genetic variation in the CCL18-CCL3-CCL4 chemokine gene cluster influences HIV type 1 transmission and AIDS disease progression. **Am. J. Hum. Genet.**, Baltimore (United States), v. 79, n. 1, p. 120-128, July 2006. doi: 10.1086/505331. PMID: 16773571.
- MOGHIMI, M. et al. Association of IL-10 rs1800871 and rs1800872 polymorphisms with breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis. **Asian Pac. J. Cancer Prev.**, Bangkok (Thailand), v. 19, n. 12, p. 3353-3359, Dec. 2018. doi: 10.31557/APJCP.2018.19.12.3353. PMID: 30583340.
- MOHAMED, H. T. et al. IL-8 and MCP-1/CCL2 regulate proteolytic activity in triple negative inflammatory breast cancer a mechanism that might be modulated by Src and Erk1/2. **Toxicol.**

**Appl. Pharmacol.**, New York (United States), v. 401, p. 115092, Aug. 2020. doi: 10.1016/j.taap.2020.115092. PMID: 32512068.

MOHAMMED, A. A. Prognostic parameter differences in breast cancer patients between luminal A and luminal B types after application of the new classification according to Ki67 score. **Int. J. Surg. Open**, Bridgetown (Barbados), v. 34, p. 100357, July 2021a. doi: 10.1016/j.ijso.2021.100357.

MOHAMMED, A. A. The clinical behavior of different molecular subtypes of breast cancer. **Cancer Treat. Res. Commun.**, London (England), v. 29, p. 100469, 2021b. doi: 10.1016/j.ctarc.2021.100469. PMID: 34624832.

MOHAMMED, R. H. et al. Estrogen and progesterone receptors in human breast cancer. Correlation with histologic subtype and degree of differentiation. **Cancer**, Hoboken (United States), v. 58, n. 5, p. 1076-1081, Sept. 1986. doi: 10.1002/1097-0142(19860901)58:5<1076::aid-cnrc2820580516>3.0.co;2-m. PMID: 3015374.

MOHAMMED, Z. M. A et al. The role the tumour inflammatory cell infiltrate in predicting recurrence and survival in patients with primary operable breast cancer. **Cancer Treat. Rev.**, Amsterdam (Netherlands), v. 38, n. 8, p. 943-955, Dec. 2012. doi: 10.1016/j.ctrv.2012.04.011. PMID: 22651904.

MONTELLA, F. et al. High TARC plasma levels confer protection to long living individuals by inducing M2 profile. **Cytokine**, Oxford (England), v. 137, p. 155305, Jan. 2021. doi: 10.1016/j.cyto.2020.155305. PMID: 33002742.

MOON, G. et al. Prediction of late recurrence in patients with breast cancer: elevated neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) at 5 years after diagnosis and late recurrence. **Breast Cancer**, Tokyo (Japan), v. 27, n. 1, p. 54-61, Jan. 2020. doi: 10.1007/s12282-019-00994-z. PMID: 31280452.

MORENO, B. et al. Association of chemokines IP-10/CXCL10 and I-TAC/CXCL11 with insulin resistance and enhance leukocyte endothelial arrest in obesity. **Microvasc. Res.**, New York (United States), v. 139, p. 104254, Jan. 2022. doi: 10.1016/j.mvr.2021.104254. PMID: 34534571.

MORGAN, E. et al. Cytometric bead array: a multiplexed assay platform with applications in various areas of biology. **Clin. Immunol.**, Orlando (United States), v. 110, n. 3, p. 252-266, Mar. 2004. doi: 10.1016/j.clim.2003.11.017. PMID: 15047203.

MOTOKI, A. H. et al. Association between metabolic syndrome and immunohistochemical profile at breast cancer diagnosis in postmenopausal women. **Clin. Breast Cancer**, New York (United States), v. 22, n. 2, p. e253-e261, Feb. 2022. doi: 10.1016/j.clbc.2021.07.009. PMID: 34465534.

NAGALINGAM, A. et al. Hyperleptinemia in obese state renders luminal breast cancers refractory to tamoxifen by coordinating a crosstalk between Med1, miR205 and ErbB. **NPJ Breast Cancer**, New York (United States), v. 7, n. 1, p. 105, Aug. 2021. doi: 10.1038/s41523-021-00314-9. PMID: 34389732.

NASRAZADANI, A. et al. Breast cancer mortality as a function of age. **Aging**, Albany (United States), v. 14, n. 3, p. 1186-1199, Feb. 2022. doi: 10.18632/aging.203881. PMID: 35134749.

NATH, A. et al. Macrophage inflammatory protein (MIP)1alpha and MIP1beta differentially regulate release of inflammatory cytokines and generation of tumoricidal monocytes in malignancy. **Cancer Immunol. Immunother.**, Berlin (Germany), v. 55, n. 12, p. 1534-1541, Dec. 2006. doi: 10.1007/s00262-006-0149-3. PMID: 16518599.

NELSON, R. T. et al. Genomic organization of the CC chemokine mip-3alpha/CCL20/larc/exodus/SCYA20, showing gene structure, splice variants, and chromosome localization. **Genomics**, San Diego (United States), v. 73, n. 1, p. 28-37, Apr. 2001. doi: 10.1006/geno.2001.6482. PMID: 11352563.

NICOLINI, A.; CARPI, A.; TARRO, G. Biomolecular markers of breast cancer. **Front. Biosci.**, Searingtown (United States), v. 11, p. 1818-1843, May 2006. doi: 10.2741/1926. PMID: 16368559.

NIE, G. et al. Tumor-associated macrophages-mediated CXCL8 infiltration enhances breast cancer metastasis: suppression by Danirixin. **Int. Immunopharmacol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 95, p. 107153, June 2021. doi: 10.1016/j.intimp.2020.107153. PMID: 33677254.

NIELSEN, T. O. et al. Assessment of Ki67 in breast cancer: updated recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer Working Group. **J. Natl. Cancer Inst.**, Cary (United States), v. 113, n. 7, p. 808-819, July 2021. doi: 10.1093/jnci/djaa201. PMID: 33369635.

NITZ, U. et al. Final analysis of the prospective WSG-AGO EC-Doc versus FEC phase III trial in intermediate-risk (pN1) early breast cancer: efficacy and predictive value of Ki67 expression. **Ann. Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 25, n. 8, p. 1551-1557, Aug. 2014. doi: 10.1093/annonc/mdu186. PMID: 24827128.

NIZRI, E. et al. Activation of the cholinergic anti-inflammatory system by nicotine attenuates neuroinflammation via suppression of Th1 and Th17 responses. **J. Immunol.**, Baltimore (United States), v. 183, n. 10, p. 6681-6688, Nov. 2009. doi: 10.4049/jimmunol.0902212. PMID: 19846875.

NOVITSKIY, S. V. et al. TGF- $\beta$  receptor II loss promotes mammary carcinoma progression by Th17 dependent mechanisms. **Cancer Discov.**, Philadelphia (United States), v. 1, n. 5, p. 430-441, Oct. 2011. doi: 10.1158/2159-8290.CD-11-0100. PMID: 22408746.

NOLAN et al. Deciphering breast cancer: from biology to the clinic, **Cell** (2023), vol 186, April. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.01.04>

NTANASIS-STATHOPOULOS, I.; FOTIOU, D.; TERPOS, E. CCL3 signaling in the tumor microenvironment. **Adv. Exp. Med. Biol.**, New York (United States), v. 1231, p. 13-21, 2020. doi: 10.1007/978-3-030-36667-4\_2. PMID: 32060842.

O'SHEA, J. J.; HOLLAND, S. M.; STAUDT, L. M. JAKs and STATs in immunity, immunodeficiency, and cancer. **N. Engl. J. Med.**, Boston (United States), v. 368, n. 2, p. 161-170, Jan. 2013. doi: 10.1056/NEJMra1202117. PMID: 23301733.

OGHUMU, S. et al. CXCR3 deficiency enhances tumor progression by promoting macrophage M2 polarization in a murine breast cancer model. **Immunology**, Oxford (England), v. 143, n. 1, p. 109-119, Sept. 2014. doi: 10.1111/imm.12293. PMID: 24679047.



- OLKHANUD, P. B. et al. Breast cancer lung metastasis requires expression of chemokine receptor CCR4 and regulatory T cells. **Cancer Res.**, Chicago (United States), v. 69, n. 14, p. 5996-6004, July 2009. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4619. PMID: 19567680.
- ORDITURA, M. et al. Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) for prediction of distant metastasis-free survival (DMFS) in early breast cancer: a propensity score-matched analysis. **ESMO Open**, London (England), v. 1, n. 2, p. e000038, Mar. 2016. doi: 10.1136/esmoopen-2016-000038. PMID: 27843594.
- OZGA, A.; CHOW, M. T.; LUSTER, A. D. Chemokines and the immune response to cancer. **Immunity**, Cambridge (United States), v. 54, n. 5, p. 859-874, May 2021. doi: 10.1016/j.immuni.2021.01.012. PMID: 33838745.
- PACCAGNELLA, M. et al. Circulating cytokines in metastatic breast cancer patients select different prognostic groups and patients who might benefit from treatment beyond progression. **Vaccines**, Basel (Switzerland), v. 10, n. 1, p. 78, Jan. 2022. doi: 10.3390/vaccines10010078. PMID: 35060239.
- PAGÈS, F. et al. International validation of the consensus immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. **Lancet**, London (England), v. 391, n. 10135, p. 2128-2139, May 2018. doi: 10.1016/S0140-6736(18)30789-X. PMID: 29754777.
- PAN, C. et al. KLP-PI: a new prognostic index for luminal B HER-2-negative breast cancer. **Hum. Cell**, Tokyo (Japan), v. 32, n. 2, p. 172-184, Apr. 2019. doi: 10.1007/s13577-018-00229-x. PMID: 30560509.
- PANG, Y. et al. Associations of adiposity, circulating protein biomarkers, and risk of major vascular diseases. **JAMA Cardiol.**, Chicago (United States), v. 6, n. 3, p. 276-286, Mar. 2021. doi: 10.1001/jamacardio.2020.6041. PMID: 33263724.
- PARKER, J. S. et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. **J. Clin. Oncol.**, Alexandria (United States), v. 27, n. 8, p. 1160-1167, Mar. 2009. doi: 10.1200/JCO.2008.18.1370. PMID: 19204204.
- PEIN, M. et al. Metastasis-initiating cells induce and exploit a fibroblast niche to fuel malignant colonization of the lungs. **Nat. Commun.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 1494, Mar. 2020. doi: 10.1038/s41467-020-15188-x. PMID: 32198421.
- PENG, G. et al. Correlation analysis of expression of CC and CXC chemokines in children with autism spectrum disorder. **Medicine (Baltimore)**, Hagerstown (United States), v. 100, n. 24, p. e26391, June 2021. doi: 10.1097/MD.00000000000026391. PMID: 34128902.
- PENG, G.-L. et al. CD8<sup>+</sup> cytotoxic and FoxP3<sup>+</sup> regulatory T lymphocytes serve as prognostic factors in breast cancer. **Am. J. Transl. Res.**, Madison (United States), v. 11, n. 8, p. 5039-5053, Aug. 2019. PMID: 31497220.
- PENG, T. et al. Oxidative DNA damage in peripheral leukocytes and its association with expression and polymorphisms of hOGG1: a study of adolescents in a high risk region for hepatocellular carcinoma in China. **World J. Gastroenterol.**, Beijing (China), v. 9, n. 10, p. 2186-2193, Oct. 2003. doi: 10.3748/wjg.v9.i10.2186. PMID: 14562375.
- PEROU, C. M. et al. Molecular portraits of human breast tumours. **Nature**, London (England), v. 406, n. 6797, p. 747-752, Aug. 2000. doi: 10.1038/35021093. PMID: 10963602.

PERVAIZ, A. et al. CCR5 blockage by maraviroc: a potential therapeutic option for metastatic breast cancer. **Cell Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 42, n. 1, p. 93-106, Feb. 2019. doi: 10.1007/s13402-018-0415-3. PMID: 30456574.

PESTELL, T. et al. Stromal cyclin D1 promotes heterotypic immune signaling and breast cancer growth. **Oncotarget**, Albany (United States), v. 8, n. 47, p. 80754-81775, Aug. 2017. doi: 10.18632/oncotarget.19953. PMID: 29137220.

PINILLA, S. et al. Tissue resident stem cells produce CCL5 under the influence of cancer cells and thereby promote breast cancer cell invasion. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 284, n. 1, p. 80-85, Oct. 2009. doi: 10.1016/j.canlet.2009.04.013. PMID: 19427114.

PITT, J. M. et al. Targeting the tumor microenvironment: removing obstruction to anticancer immune responses and immunotherapy. **Ann. Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 27, n. 8, p. 1482-1492, Aug. 2016. doi: 10.1093/annonc/mdw168. PMID: 27069014.

POLYCHEMATHERAPY for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. **Lancet**, London (England), v. 352, n.9132, p. 930-942, Sept. 1998. PMID: 9752815.

POMMIER, R. M. et al. Comprehensive characterization of claudin-low breast tumors reflects the impact of the cell-of-origin on cancer evolution. **Nat. Commun.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 3431, July 2020. doi: 10.1038/s41467-020-17249-7. PMID: 32647202.

POPEDA, M. et al. Reduced expression of innate immunity-related genes in lymph node metastases of luminal breast cancer patients. **Sci. Rep.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 5097, Mar. 2021. doi: 10.1038/s41598-021-84568-0. PMID: 33658651.

POTTER, S. M. et al. Influence of stromal-epithelial interactions on breast cancer in vitro and in vivo. **Breast Cancer Res. Treat.**, The Hague (Netherlands), v. 131, n. 2, p. 401-411, Jan. 2012. doi: 10.1007/s10549-011-1410-9. PMID: 21644235.

PREMENOPAUSAL Breast Cancer Collaborative Group et al. Association of body mass index and age with subsequent breast cancer risk in premenopausal women. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 4, n. 11, p. e181771, Nov. 2018. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.1771. PMID: 29931120.

PROOST, P. et al. Proteolytic processing of CXCL11 by CD13/aminopeptidase N impairs CXCR3 and CXCR7 binding and signaling and reduces lymphocyte and endothelial cell migration. **Blood**, New York (United States), v. 110, n. 1, p. 37-44, July 2007. doi: 10.1182/blood-2006-10-049072. PMID: 17363734.

PUCHERT, M. et al. Identification of CXCL11 as part of chemokine network controlling skeletal muscle development. **Cell Tissue Res.**, Berlin (Germany), v. 384, n. 2, p. 499-511, May 2021. doi: 10.1007/s00441-020-03398-0. PMID: 33502606.

QI, X.-F. et al. Essential involvement of cross-talk between IFN-gamma and TNF-alpha in CXCL10 production in human THP-1 monocytes. **J. Cell Physiol.**, Philadelphia (United States), v. 220, n. 3, p. 690-697, Sept. 2009. doi: 10.1002/jcp.21815. PMID: 19472212.

QIAN, F. et al. High tumor-infiltrating FoxP3<sup>+</sup> T cells predict poor survival in estrogen receptor-positive breast cancer: a meta-analysis. **Eur. J. Surg. Oncol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 43, n. 7, p. 1258-1264, July 2017. doi: 10.1016/j.ejso.2017.01.011. PMID: 28214052.

- RACIOPPI, L. et al. CaMKK2 in myeloid cells is a key regulator of the immune-suppressive microenvironment in breast cancer. **Nat. Commun.**, London (England), v. 10, n. 1, p. 2450, June 2019. doi: 10.1038/s41467-019-10424-5. PMID: 31164648.
- RÄDLER, P. D. et al. Highly metastatic claudin-low mammary cancers can originate from luminal epithelial cells. **Nat. Commun.**, London (England), v. 12, n. 1, p. 3742, June 2021. doi: 10.1038/s41467-021-23957-5. PMID: 34145248.
- RAGHAVAKAIMAL, A. et al. CCR5 activation and endocytosis in circulating tumor-derived cells isolated from the blood of breast cancer patients provide information about clinical outcome. **Breast Cancer Res.**, London (England), v. 24, n. 1, p. 35, May 2022. doi: 10.1186/s13058-022-01528-w. PMID: 35606863.
- RAJ-KUMAR, P.-K. et al. PCA-PAM50 improves consistency between breast cancer intrinsic and clinical subtyping reclassifying a subset of luminal A tumors as luminal B. **Sci. Rep.**, London (England), v. 9, n. 1, p. 7956, May 2019. doi: 10.1038/s41598-019-44339-4. PMID: 31138829.
- RAPOPORT, B. L. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in early breast cancer patients: high CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, and immunoscore are associated with a pathological complete response. **Cancers**, Basel (Switzerland), v. 14, n. 10, p. 2525, May 2022. doi: 10.3390/cancers14102525. PMID: 35626126.
- RAZIS, E. et al. The role of CXCL13 and CXCL9 in early breast cancer. **Clin. Breast Cancer**, New York (United States), v. 20, n. 1, p. e36-e53, Feb. 2020. doi: 10.1016/j.clbc.2019.08.008. PMID: 31699671.
- REYNOLDS, P. Smoking and breast cancer. **J. Mammary Gland. Biol. Neoplasia**, New York (United States), v. 18, n. 1, p. 15-23, Mar. 2013. doi: 10.1007/s10911-012-9269-x. PMID: 23179580.
- RIAZI RAD, F. et al. Comparative analysis of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in tumor tissues, lymph nodes and the peripheral blood from patients with breast cancer. **Iran Biomed. J.**, Tehran (Iran), v. 19, n. 1, p. 35-44, 2015. doi: 10.6091/ibj.1289.2014. PMID: 25605488.
- ROBINSON, S. C. et al. A chemokine receptor antagonist inhibits experimental breast tumor growth. **Cancer Res.**, Chicago (United States), v. 63, n. 23, p. 8360-8365, Dec. 2003. PMID: 14678997.
- RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, A. M.; RODRÍGUEZ-MÍGUEZ, E. Measurement of dependence based on the care time and the dependency assessment scale. **Rev. Esp. Geriatr. Gerontol.**, Madrid (Spain), v. 56, n. 1, p. 35-40, Jan.-Feb. 2021. doi: 10.1016/j.regg.2020.06.006. PMID: 33081980.
- ROMERO-MORENO, R. et al. The CXCL5/CXCR2 axis is sufficient to promote breast cancer colonization during bone metastasis. **Nat. Commun.**, London (England), v. 10, n. 1, p. 4404, Sept. 2019. doi: 10.1038/s41467-019-12108-6. PMID: 31562303.
- RUIZ-GARCIA, E. et al. Gene expression profiling identifies fibronectin 1 and CXCL9 as candidate biomarkers for breast cancer screening. **Br. J. Cancer**, London (England), v. 102, n. 3, p. 462-468, Feb. 2010. doi: 10.1038/sj.bjc.6605511. PMID: 20068563.
- SABOGAL, C. et al. Cigarette smoking related DNA methylation in peripheral leukocytes and cardiovascular risk in young adults. **Int. J. Cardiol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 306, p. 203-205, May 2020. doi: 10.1016/j.ijcard.2019.11.103. PMID: 31757649.

- SAEKI, H.; TAMAKI, K. Thymus and activation regulated chemokine (TARC)/CCL17 and skin diseases. **J. Dermatol. Sci.**, Amsterdam (Netherlands), v. 43, n. 2, p. 75-84, Aug. 2006. doi: 10.1016/j.jdermsci.2006.06.002. PMID: 16859899.
- SAINI, C. et al. Leprosy reactions show increased Th17 cell activity and reduced FOXP3+ Tregs with concomitant decrease in TGF- $\beta$  and increase in IL-6. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, San Francisco (United States), v. 10, n. 4, p. e0004592, Apr. 2016. doi: 10.1371/journal.pntd.0004592. PMID: 27035913.
- SAJI, H. et al. Significant correlation of monocyte chemoattractant protein-1 expression with neovascularization and progression of breast carcinoma. **Cancer**, New York (United States), v. 92, n. 5, p. 1085-1091, Sept. 2001. doi: 10.1002/1097-0142(20010901)92:5<1085::aid-cncr1424>3.0.co;2-k. PMID: 11571719.
- SALAZAR, N. et al. The chemokine receptor CXCR7 interacts with EGFR to promote breast cancer cell proliferation. **Mol. Cancer**, London (England), v. 13, p. 198, Aug. 2014. doi: 10.1186/1476-4598-13-198. PMID: 25168820.
- SALI, A. P. et al. Identification of Luminal subtypes of breast carcinoma using surrogate immunohistochemical markers and ascertaining their prognostic relevance. **Clin. Breast Cancer**, New York (United States), v. 20, n. 5, p. 382-389, Oct. 2020. doi: 10.1016/j.clbc.2020.03.012. PMID: 32467058.
- SALMI, M.; JALKANEN, S. Cell-surface enzymes in control of leukocyte trafficking. **Nat. Rev. Immunol.**, London (England), v. 5, n. 10, p. 760-771, Oct. 2005. doi: 10.1038/nri1705. PMID: 16200079.
- SAMANTA, A. et al. TGF-beta and IL-6 signals modulate chromatin binding and promoter occupancy by acetylated FOXP3. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, Washington (United States), v. 105, n. 37, p. 14023-14027, Sept. 2008. doi: 10.1073/pnas.0806726105. PMID: 18779564.
- SANO, E. et al. Interleukin-6 sensitizes TNF- $\alpha$  and TRAIL/Apo2L dependent cell death through upregulation of death receptors in human cancer cells. **Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.**, Amsterdam (Netherlands), v. 1868, n. 7, p. 119037, June 2021. doi: 10.1016/j.bbamcr.2021.119037. PMID: 33839168.
- SANO, T. et al. Inhibition of the growth of breast cancer-associated brain tumors by the osteocyte-derived conditioned medium. **Cancers**, Basel (Switzerland), v. 13, n. 5, p. 1061, Mar. 2021. doi: 10.3390/cancers13051061. PMID: 33802279.
- SARKAR, T. et al. FOXP3/HAT1 axis controls Treg infiltration in the tumor microenvironment by inducing CCR4 expression in breast cancer. **Front. Immunol.**, Lausanne (Switzerland), v. 13, p. 740588, Feb. 2022. doi: 10.3389/fimmu.2022.740588. PMID: 35222362.
- SASAKI, S. et al. Essential roles of the interaction between cancer cell-derived chemokine, CCL4, and intra-bone CCR5-expressing fibroblasts in breast cancer bone metastasis. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 378, n. 1, p. 23-32, Aug. 2016. doi: 10.1016/j.canlet.2016.05.005. PMID: 27177471.
- SAWANT, K. V. et al. Chemokine CXCL1 mediated neutrophil recruitment: role of glycosaminoglycan interactions. **Sci. Rep.**, London (England), v. 6, p. 33123, Sept. 2016. doi: 10.1038/srep33123. PMID: 27625115.

SAWANT, K. V. et al. Neutrophil recruitment by chemokines CXCL1/KC and CXCL2/MIP2: role of CXCR2 activation and glycosaminoglycan interactions. **J. Leukoc. Biol.**, New York (United States), v. 109, n. 4, p. 777-791, Apr. 2021. doi: 10.1002/JLB.3A0820-207R. PMID: 32881070.

SCHALLER, T. H. et al. Chemokines as adjuvants for immunotherapy: implications for immune activation with CCL3. **Expert Rev. Clin. Immunol.**, London (England), v. 13, n. 11, p. 1049-1060, Nov. 2017. doi: 10.1080/1744666X.2017.1384313. PMID: 28965431.

SCHERNBERG, A. et al. Leukocytosis and neutrophilia predicts outcome in anal cancer. **Radiother. Oncol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 122, n. 1, p. 137-145, Jan. 2017. doi: 10.1016/j.radonc.2016.12.009. PMID: 28024835.

SCHERÜBL, H. [Smoking tobacco and cancer risk]. **Dtsch. Med. Wochenschr.**, Stuttgart (Germany), v. 146, n. 6, p. 412-417, Mar. 2021. doi: 10.1055/a-1216-7050. PMID: 33735927.

SELLA, T. et al. Neoadjuvant endocrine therapy in clinical practice: a review. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 7, n. 11, p. 1700-1708, Nov. 2021. doi: 10.1001/jamaoncol.2021.2132. PMID: 34499101.

SenGUPTA, S. et al. Triple-negative breast cancer cells recruit neutrophils by secreting TGF- $\beta$  and CXCR2 ligands. **Front. Immunol.**, Lausanne (Switzerland), v. 12, p. 659996, Apr. 2021. doi: 10.3389/fimmu.2021.659996. PMID: 33912188.

SHAH, K. et al. The emerging roles of eosinophils in mucosal homeostasis. **Mucosal Immunol.**, New York (United States), v. 13, n. 4, p. 574-583, July 2020. doi: 10.1038/s41385-020-0281-y. PMID: 32157190.

SHI, J.; XUE, J. Inflammation and development of pancreatic ductal adenocarcinoma. **Chin. Clin. Oncol.**, Hong Kong (China), v. 8, n. 2, p. 19, Apr. 2019. doi: 10.21037/cco.2019.04.02. PMID: 31070039.

SHIELD, K. D.; SOERJOMATARAM, I.; REHM, J. Alcohol use and breast cancer: a critical review. **Alcohol Clin. Exp. Res.**, New York (United States), v. 40, n. 6, p. 1166-1181, June 2016. doi: 10.1111/acer.13071. PMID: 27130687.

SHIN, S. Y. et al. TNF $\alpha$ -exposed bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote locomotion of MDA-MB-231 breast cancer cells through transcriptional activation of CXCR3 ligand chemokines. **J. Biol. Chem.**, Baltimore (United States), v. 285, n. 40, p. 30731-30740, Oct. 2010. doi: 10.1074/jbc.M110.128124. PMID: 20650898.

SIEGEL, R. L. et al. Cancer statistics, 2022. **CA Cancer J. Clin.**, Hoboken (United States), v. 72, n. 1, p. 7-33, Jan. 2022. doi: 10.3322/caac.21708. PMID: 35010104.

SIERSBÆK, R. et al. IL6/STAT3 signaling hijacks estrogen receptor  $\alpha$  enhancers to drive breast cancer metastasis. **Cancer Cell**, Cambridge (United States), v. 38, n. 3, p. 412-423, Sept. 2020. doi: 10.1016/j.ccell.2020.06.007. PMID: 32679107.

SILVA, B. R. et al. Functional haplotype in the interleukin8 (CXCL8) gene is associated with type 2 Diabetes Mellitus and periodontitis in brazilian population. **Diabetes Metab. Syndr.**, Amsterdam (Netherlands), v. 14, n. 6, p. 1665-1672, Nov.-Dec. 2020. doi: 10.1016/j.dsx.2020.08.036. PMID: 32905938.

- SINGH, J. K. et al. Recent advances reveal IL-8 signaling as a potential key to targeting breast cancer stem cells. **Breast Cancer Res.**, London (England), v. 15, n. 4, p. 210, 2013. doi: 10.1186/bcr3436. PMID: 24041156.
- SOBRAL-LEITE, M. et al. Cancer-immune interactions in ER-positive breast cancers: PI3K pathway alterations and tumor-infiltrating lymphocytes. **Breast Cancer Res.**, London (England), v. 21, n. 1, p. 90, Aug. 2019. doi: 10.1186/s13058-019-1176-2. PMID: 31391067.
- SONG, W. et al. Hormones induce the formation of luminal-derived basal cells in the mammary gland. **Cell Res.**, Beijing (China), v. 29, n 3, p. 206-220, Mar. 2019. doi: 10.1038/s41422-018-0137-0. PMID: 30631153.
- SORIA, G.; BEN-BARUCH, A. The inflammatory chemokines CCL2 and CCL5 in breast cancer. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 267, n. 2, p. 271-285, Aug. 2008. doi: 10.1016/j.canlet.2008.03.018. PMID: 18439751.
- SOUSA, R. O. et al. The imbalance of TNF and IL-6 levels and FOXP3 expression at the maternal-fetal interface is involved in adverse pregnancy outcomes in a susceptible murine model of congenital toxoplasmosis. **Cytokine**, Oxford (England), v. 143, p. 155517, July 2021. doi: 10.1016/j.cyto.2021.155517. PMID: 33814270.
- STANTON, S. E.; ADAMS, S.; DISIS, M. Variation in the incidence and magnitude of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer subtypes: a systematic review. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 2, n. 10, p. 1354-1360, Oct. 2016. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.1061. PMID: 27355489.
- STAVERSKY, R. J. et al. The chemokine CCL3 regulates myeloid differentiation and hematopoietic stem cell numbers. **Sci. Rep.**, London (England), v. 8, n. 1, p. 14691, Oct. 2018. doi: 10.1038/s41598-018-32978-y. PMID: 30279500.
- STOLER-BARAK, L.; SHULMAN, Z. The path of the T-bet-ian CD8<sup>+</sup> T cells. **Nat. Immunol.**, New York (United States), v. 22, n. 4, p. 402-403, Apr. 2021. doi: 10.1038/s41590-021-00905-5. PMID: 33758404.
- SVENSSON, S. et al. CCL2 and CCL5 are novel therapeutic targets for estrogen-dependent breast cancer. **Clin. Cancer Res.**, Denville (United States), v. 21, n. 16, p. 3794-3805, Aug. 2015. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0204. PMID: 25901081.
- SZEITZ, B. et al. Investigating the prognostic relevance of tumor immune microenvironment and immune gene assembly in breast carcinoma subtypes. **Cancers**, Basel (Switzerland), v. 14, n. 8, p. 1942, Apr. 2022. doi: 10.3390/cancers14081942. PMID: 35454849.
- TABARIÈS, S. et al. Granulocytic immune infiltrates are essential for the efficient formation of breast cancer liver metastases. **Breast Cancer Res.**, London (England), v. 17, n. 1, p. 45, Mar. 2015. doi: 10.1186/s13058-015-0558-3. PMID: 25882816.
- TANG, Y. et al. Evaluation of Th1/Th2 cytokines as a rapid diagnostic tool for severe infection in paediatric haematology/oncology patients by the use of cytometric bead array technology. **Clin. Microbiol. Infect.**, Paris (French), v. 17, n. 11, p. 1666-1673, Nov. 2011. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03490.x. PMID: 21463393.

- TAO, L. et al. Induced p53 loss in mouse luminal cells causes clonal expansion and development of mammary tumours. **Nat. Commun.**, London (England), v. 8, p. 14431, Feb. 2017. doi: 10.1038/ncomms14431. PMID: 28194015.
- TASHIRO, H. et al. Biomarkers for overweight in adult-onset asthma. **J. Asthma Allergy**, Auckland (New Zealand), v. 13, p. 409-414, Oct. 2020. doi: 10.2147/JAA.S276371. PMID: 33061467.
- TAVAKKOLI, M. et al. A novel paradigm between leukocytosis, G-CSF secretion, neutrophil-to-lymphocyte ratio, myeloid-derived suppressor cells, and prognosis in non-small cell lung cancer. **Front. Oncol.**, Lausanne (Switzerland), v. 9, p. 295, Apr. 2019. doi: 10.3389/fonc.2019.00295. PMID: 31080780.
- TAWARA, K. et al. Co-expression of VEGF and IL-6 family cytokines is associated with decreased survival in HER2 negative breast cancer patients: subtype-specific IL-6 family cytokine-mediated VEGF secretion. **Transl. Oncol.**, Ann Arbor (United States), v. 12, n. 2, p. 245-255, Feb. 2019. doi: 10.1016/j.tranon.2018.10.004. PMID: 30439625.
- TEDLA, N. et al. Abundant expression of chemokines in malignant and infective human lymphadenopathies. **Cytokine**, Philadelphia (United States), v. 11, n. 7, p. 531-540, July 1999. doi: 10.1006/cyto.1998.0439. PMID: 10419655.
- THELEN, M.; STEIN, J. V. How chemokines invite leukocytes to dance. **Nat. Immunol.**, New York (United States), v. 9, n. 9, p. 863-959, Sept. 2008. doi: 10.1038/ni.f.207. PMID: 18711432.
- THOMAS, J. K. et al. CC chemokines are differentially expressed in breast cancer and are associated with disparity in overall survival. **Sci. Rep.**, London (England), v. 9, n. 1, p. 4014, Mar. 2019. doi: 10.1038/s41598-019-40514-9. PMID: 30850664.
- TOKUMARU, Y. et al. Low intratumoral genetic neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) is associated with favorable tumor immune microenvironment and with survival in triple negative breast cancer (TNBC). **Am. J. Cancer Res.**, Madison (United States), v. 11, n. 11, p. 5743-5755, Nov. 2021. PMID: 34873491.
- TRIOLA, M. F. **Elementary Statistics: technology update**. 11th ed. Londres: Pearson. 2010. 888p.
- TRIPSIANIS, G. et al. Coexpression of IL-6 and TNF- $\alpha$ : prognostic significance on breast cancer outcome. **Neoplasma**, Bratislava (Slovakia), v. 61, n. 2, p. 205-212, 2014. doi: 10.4149/neo\_2014\_026. PMID: 24299316.
- TRIPSIANIS, G. et al. Overall survival and clinicopathological characteristics of patients with breast cancer in relation to the expression pattern of HER-2, IL-6, TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$ 1. **Asian Pac. J. Cancer Prev.**, Bangkok (Thailand), v. 14, n. 11, p. 6813-6820, 2013. doi: 10.7314/apjcp.2013.14.11.6813. PMID: 24377611.
- TSUTSUMI, E. et al. Cxcl10 chemokine induces migration of ING4-deficient breast cancer cells via a novel cross talk mechanism between the Cxcr3 and Egfr receptors. **Mol. Cell Biol.**, Washington (United States), v. 42, n. 2, p. e0038221, Feb. 2022. doi: 10.1128/MCB.00382-21. PMID: 34871062.
- UMEMURA, S. et al. Estrogen receptor-negative and human epidermal growth factor receptor 2-negative breast cancer tissue have the highest Ki-67 labeling index and EGFR expression:

gene amplification does not contribute to EGFR expression. **Oncol. Rep.**, Athens (Greece), v. 14, n. 2, p. 337-343, Aug. 2005. PMID: 16012712.

VALENTIN, M. D. et al. Molecular insights on basal-like breast cancer. **Brest Cancer Res. Treat.**, The Hague (Netherlands), v. 134, n. 1, p. 21-30, July 2012. doi: 10.1007/s10549-011-1934-z. PMID: 22234518.

VALETA-MAGARA, A. et al. Pro-oncogenic cytokines and growth factors are differentially expressed in the post-surgical wound fluid from malignant compared to benign breast lesions. **SpringerPlus**, Switzerland, v. 4, p. 483, Sept. 2015. doi: 10.1186/s40064-015-1260-8. PMID: 26361584.

Van Der ZALM, I. J. B. et al. Obesity-associated T-cell and macrophage activation improve partly after a lifestyle intervention. **Int. J. Obes.**, London (England), v. 44, n. 9, p. 1838-1850, Sept. 2020. doi: 10.1038/s41366-020-0615-6. PMID: 32678324.

Van KEYMEULEN, A. et al. Distinct stem cells contribute to mammary gland development and maintenance. **Nature**, London (England), v. 479, n. 7372, p. 189-193, Oct. 2011. doi: 10.1038/nature10573. PMID: 21983963.

VARGAS, G. et al.  $ERR\alpha$  promotes breast cancer cell dissemination to bone by increasing RANK expression in primary breast tumours. **Oncogene**, Basingstoke (England), v. 38, n. 7, p. 950-964, Feb. 2019. doi: 10.1038/s41388-018-0579-3. PMID: 30478447.

VARGAS-INCHAUSTEGUI, D. A. et al. CXCL10 production by human monocytes in response to *Leishmania braziliensis* infection. **Infect. Immun.**, Bethesda (United States), v. 78, n. 1, p. 301-308, Jan. 2010. doi: 10.1128/IAI.00959-09. PMID: 19901067.

VISHNUBALAJI, R. et al. Integrated transcriptome and pathway analyses revealed multiple activated pathways in breast cancer. **Front. Oncol.**, Lausanne (Switzerland), v. 9, p. 910, Sept. 2019. doi: 10.3389/fonc.2019.00910. PMID: 31620367.

WALSER, T. C. et al. Immune-mediated modulation of breast cancer growth and metastasis by the chemokine Mig (CXCL9) in a murine model. **J. Immunother.**, Hagerstown (United States), v. 30, n. 5, p. 490-498, July-Aug. 2007. doi: 10.1097/CJI.0b013e318031b551. PMID: 17589289.

WANG, F. et al. Bioinformatics, molecular docking and experiments in vitro analyze the prognostic value of CXC chemokines in breast cancer. **Front. Oncol.**, Lausanne (Switzerland), v. 11, p. 665080, May 2021. doi: 10.3389/fonc.2021.665080. PMID: 34123826.

WANG, G.-Z. et al. Tobacco smoke induces production of chemokine CCL20 to promote lung cancer. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 363, n. 1, p. 60-70, July 2015. doi: 10.1016/j.canlet.2015.04.005. PMID: 25864589.

WANG, J. et al. Chemokines fluctuate in the progression of primary breast cancer. **Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.**, Rome (Italy), v. 17, n. 5, p. 596-608, Mar. 2013. PMID: 23513442.

WANG, J. et al. Enhanced expression of Duffy antigen receptor for chemokines by breast cancer cells attenuates growth and metastasis potential. **Oncogene**, Basingstoke (England), v. 25, n. 54, p. 7201-7211, Nov. 2006. doi: 10.1038/sj.onc.1209703. PMID: 16785997.



WANG, J. et al. Functions of CXC chemokines as biomarkers and potential therapeutic targets in the hepatocellular carcinoma microenvironment. **Transl. Cancer Res.**, Hong Kong (China), v. 10, n. 5, p. 2169-2187, May 2021. doi: 10.21037/tcr-21-127. PMID: 35116536.

WANG, N. et al. CXCL1 derived from tumor-associated macrophages promotes breast cancer metastasis via activating NF- $\kappa$ B/SOX4 signaling. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 9, n. 9, p. 880, Aug. 2018. doi: 10.1038/s41419-018-0876-3. PMID: 30158589.

WANG, R.-X. et al. Value of CXCL8-CXCR1/2 axis in neoadjuvant chemotherapy for triple-negative breast cancer patients: a retrospective pilot study. **Breast Cancer Res. Treat.**, The Hague (Netherlands), v. 181, n. 3, p. 561-570, June 2020. doi: 10.1007/s10549-020-05660-z. PMID: 32361849.

WANG, T. et al. Estrogen/ER in anti-tumor immunity regulation to tumor cell and tumor microenvironment. **Cancer Cell Int.**, London (England), v. 21, n. 1, p. 295, June 2021. doi: 10.1186/s12935-021-02003-w. PMID: 34098945.

WANG, Y. et al. Cellular and molecular mechanisms underlying alcohol-induced aggressiveness of breast cancer. **Pharmacol. Res.**, Amsterdam (Netherlands), v. 115, p. 299-308, Jan. 2017. doi: 10.1016/j.phrs.2016.12.005. PMID: 27939360.

WANG, Y. et al. HIC1 deletion promotes breast cancer progression by activating tumor cell/fibroblast crosstalk. **J. Clin. Invest.**, Ann Arbor (United States), v. 128, n. 12, p. 5235-5250, Dec. 2018. doi: 10.1172/JCI99974. PMID: 30204129.

WARNER, E. T. et al. Racial and ethnic differences in breast cancer survival: mediating effect of tumor characteristics and sociodemographic and treatment factors. **J. Clin. Oncol.**, Alexandria (United States), v. 33, n. 20, p. 2254-2261, July 2015. doi: 10.1200/JCO.2014.57.1349. PMID: 25964252.

WASILKO, D. J. et al. Structural basis for chemokine receptor CCR6 activation by the endogenous protein ligand CCL20. **Nat. Commun.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 3031, June 2020. doi: 10.1038/s41467-020-16820-6. PMID: 32541785.

WEI, L. et al. Prognosis significance of indoleamine 2, 3-dioxygenase, programmed death ligand-1 and tumor-infiltrating immune cells in microenvironment of breast cancer. **Int. Immunopharmacol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 84, p. 106506, July 2020. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106506. PMID: 32330866.

WEIDHAAS, J. B. et al. The kras-variant and cetuximab response in head and neck squamous cell cancer: a secondary analysis of a randomized clinical trial. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 3, n. 4, p. 483-491, Apr. 2017. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.5478. PMID: 28006059.

WONG, P.-P. et al. Cancer burden is controlled by mural cell- $\beta$ 3-integrin regulated crosstalk with tumor cells. **Cell**, Cambridge (United States), v. 181, n. 6, p. 1346-1363, June 2020. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.003. PMID: 32473126.

WOODWARD, W. A. et al. Association between 21-gene assay recurrence score and locoregional recurrence rates in patients with node-positive breast cancer. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 6, n. 4, p. 505-511, Apr. 2020. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.5559. PMID: 31917424.

WU, J.-L. et al. Prediction of axillary lymph node metastases in breast cancer patients based on pathologic information of the primary tumor. **Med. Sci. Monit.**, Smithtown (United States), v. 20, p. 577-581, Apr. 2014. doi: 10.12659/MSM.890345. PMID: 24714517.

WU, L. et al. Breast cancer cell-neutrophil interactions enhance neutrophil survival and pro-tumorigenic activities. **Cancers**, Basel (Switzerland), v. 12, n. 10, p. 2884, Oct. 2020. doi: 10.3390/cancers12102884. PMID: 33049964.

WU, S. Z. et al. A single-cell and spatially resolved atlas of human breast cancers. **Nat. Genet.**, New York (United States), v. 53, n. 9, p. 1334-1347, Sept. 2021. doi: 10.1038/s41588-021-00911-1. PMID: 34493872.

WU, X. et al. CXCL10 mediates breast cancer tamoxifen resistance and promotes estrogen-dependent and independent proliferation. **Mol. Cell Endocrinol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 512, p. 110866, July 2020. doi: 10.1016/j.mce.2020.110866. PMID: 32417506.

WYNS, H. et al. Development of a cytometric bead array screening tool for the simultaneous detection of pro-inflammatory cytokines in porcine plasma. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 151, n. 1-2, p. 28-36, Jan. 2013. doi: 10.1016/j.vetimm.2012.09.041. PMID: 23159236.

XU, Y. et al. Novel module and hub genes of distinctive breast cancer associated fibroblasts identified by weighted gene co-expression network analysis. **Breast Cancer**, Tokyo (Japan), v. 27, n. 5, p. 1017-1028, Sept. 2020. doi: 10.1007/s12282-020-01101-3.

XU, Y.; LAN, S.; ZHENG, Q. Prognostic significance of infiltrating immune cell subtypes in invasive ductal carcinoma of the breast. **Tumori**, Thousand Oaks (United States), v. 104, n. 3, p. 196-201, June 2018. doi: 10.5301/tj.5000624. PMID: 32383139.

YAMAGUCHI, M. et al. Stromal CCL5 promotes breast cancer progression by interacting with CCR3 in tumor cells. **Int. J. Mol. Sci.**, Basel (Switzerland), v. 22, n. 4, p. 1918, Feb. 2021. doi: 10.3390/ijms22041918. PMID: 33671956.

YAMANOUCHI, K.; KUBA, S.; EGUCHI, S. Hormone receptor, human epidermal growth factor receptor-2, and Ki-67 status in primary breast cancer and corresponding recurrences or synchronous axillary lymph node metastases. **Surg. Today**, Tokyo (Japan), v. 50, n. 7, p. 657-663, July 2020. doi: 10.1007/s00595-019-01831-8. PMID: 31190183.

YANG, C. et al. CXCL1 stimulates migration and invasion in ER-negative breast cancer cells via activation of the ERK/MMP2/9 signaling axis. **Int. J. Oncol.**, Athens (Greece), v. 55, n. 3, p. 684-696, Sept. 2019. doi: 10.3892/ijo.2019.4840. PMID: 31322183.

YANG, F. et al. CXCR1 correlates to poor outcomes of EGFR-TKI against advanced non-small cell lung cancer by activating chemokine and JAK/STAT pathway. **Pulm. Pharmacol. Ther.**, London (England), v. 67, p. 102001, Apr. 2021. doi: 10.1016/j.pupt.2021.102001. PMID: 33582208.

YANG, Y. et al. TNF-alpha polymorphisms and breast cancer. **Breast Cancer Res. Treat.**, The Hague (Netherlands), v. 129, n. 2, p. 513-519, Sept. 2011. doi: 10.1007/s10549-011-1494-2. PMID: 21476000.

YIANNAKOPOULOU, E. Etiology of familial breast cancer with undetected BRCA1 and BRCA2 mutations: clinical implications. **Cell Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 37, n. 1, p. 1-8, Dec. 2014. Doi: 10.1007/s13402-013-0158-0. PMID: 24306927.

YAO, Y.; TSIRKA, S. E. The C terminus of mouse monocyte chemoattractant protein 1 (MCP1) mediates MCP1 dimerization while blocking its chemotactic potency. **J. Biol. Chem.**, Baltimore (United States), v. 285, n. 41, p. 31509-31516, Oct. 2010. doi: 10.1074/jbc.M110.124891. PMID: 20682771.

YEUDALL, W. A. et al. Gain-of-function mutant p53 upregulates CXC chemokines and enhances cell migration. **Carcinogenesis**, New York (United States), v. 33, n. 2, p. 442-451, Feb. 2012. doi: 10.1093/carcin/bgr270. PMID: 22114072.

YI, S.; ZHOU, W. Tumorigenesis-related key genes in adolescents and young adults with HR(+)/HER2(-) breast cancer. **Int. J. Clin. Exp. Pathol.**, Madison (United States), v. 13, n. 10, p. 2701-2709, Oct. 2020. PMID: 33165441.

YOKOI, E. et al. Incorporation of pretreatment leukocytosis and thrombocytosis into the FIGO staging system for prognosis in surgically treated endometrial cancer. **Int. J. Gynaecol. Obstet.**, Malden (United States), v. 151, n. 2, p. 272-278, Nov. 2020. doi: 10.1002/ijgo.13327. PMID: 32712993.

YOSHIMURA, T. The chemokine MCP-1 (CCL2) in the host interaction with cancer: a foe or ally? **Cell Mol. Immunol.**, Beijing (China), v. 15, n. 4, p. 335-345, Apr. 2018. doi: 10.1038/cmi.2017.135. PMID: 29375123.

YOSHIMURA, T. The production of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)/CCL2 in tumor microenvironments. **Cytokine**, Oxford (England), v. 98, p. 71-78, Oct. 2017. doi: 10.1016/j.cyto.2017.02.001. PMID: 28189389.

YU, C.-W. et al. Pro-inflammatory cytokines IL-6 and CCL2 suppress expression of circadian gene Period2 in mammary epithelial cells. **Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech.**, Amsterdam (Netherlands), v. 1861, n. 11, p. 1007-1017, Nov. 2018. doi: 10.1016/j.bbagr.2018.09.003. PMID: 30343691.

YU, N. Y. et al. Assessment of long-term distant recurrence-free survival associated with tamoxifen therapy in postmenopausal patients with luminal A or luminal B breast cancer. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 5, n. 9, p. 1304-1309, Sept. 2019. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.1856. PMID: 31393518.

ZEINOMAR, N.; BANDERA, E. V.; QIN, B. Toward understanding the etiology of male breast cancer: an ongoing research challenge. **JNCI Cancer Spectr.**, Oxford (England), v. 5, n. 5, p. pkab079, Aug. 2021. doi: 10.1093/jncics/pkab079. PMID: 34703984.

ZEPPELLINI, A. et al. Comparison of tumor microenvironment in primary and paired metastatic ER+/HER2- breast cancers: results of a pilot study. **BMC Cancer**, London (England), v. 21, n. 1, p. 260, Mar. 2021. doi: 10.1186/s12885-021-07960-z. PMID: 33691674.

ZHANG, F.; LIU, S. Mechanistic insights of adipocyte metabolism in regulating breast cancer progression. **Pharmacol. Res.**, Amsterdam (Netherlands), v. 155, p. 104741, May 2020. doi: 10.1016/j.phrs.2020.104741. PMID: 32151679.

ZHANG, H. et al. Interleukin-10: an immune-activating cytokine in cancer immunotherapy. **J. Clin. Oncol.**, Alexandria (United States), v. 34, n. 29, p. 3576-3578, Oct. 2016. doi: 10.1200/JCO.2016.69.6435. PMID: 27573656.

ZHANG, J.; HU, D. miR-1298-5p influences the malignancy phenotypes of breast cancer cells by inhibiting CXCL11. **Cancer Manag. Res.**, Auckland (New Zealand), v. 13, p. 133-145, Jan. 2021. doi: 10.2147/CMAR.S279121. PMID: 33469358.

ZHANG, R. et al. Combination of MIG (CXCL9) chemokine gene therapy with low-dose cisplatin improves therapeutic efficacy against murine carcinoma. **Gene Ther.**, London (England), v. 13, n. 17, p. 1263-1271, Sept. 2006. doi: 10.1038/sj.gt.3302756. PMID: 16672984.

ZHANG, Y. et al. A novel role of hematopoietic CCL5 in promoting triple-negative mammary tumor progression by regulating generation of myeloid-derived suppressor cells. **Cell Res.**, Beijing (China), v. 23, n. 3, p. 394-408, Mar. 2013. doi: 10.1038/cr.2012.178. PMID: 23266888.

ZHANG, Y. et al. Role of CCL5 in invasion, proliferation and proportion of CD44+/CD24- phenotype of MCF-7 cells and correlation of CCL5 and CCR5 expression with breast cancer progression. **Oncol. Rep.**, Athens (Greece), v. 21, n. 4, p. 1113-1121, Apr. 2009. doi.org/10.3892/or\_00000331. PMID: 19288016.

ZHANG, Y.; ERNST, C. A.; ROLLINS, B. J. MCP-1: structure/activity analysis. **Methods**, San Diego (United States), v. 10, n. 1, p. 93-103, Aug. 1996. doi: 10.1006/meth.1996.0083. PMID: 8812649.

ZHAO, H. et al. Alcohol consumption promotes colorectal carcinoma metastasis via a CCL5-induced and AMPK-pathway-mediated activation of autophagy. **Sci. Rep.**, London (England), v. 8, n. 1, p. 8640, June 2018. doi: 10.1038/s41598-018-26856-w. PMID: 29872080.

ZHAO, H. et al. Clinical significance of serum type III interferons in patients with gastric cancer. **J. Interferon Cytokine Res.**, New York (United States), v. 39, n. 3, p. 155-163, Mar. 2019. doi: 10.1089/jir.2018.0119. PMID: 30672717.

ZHAO, Z. et al. Systemic tumour suppression via the preferential accumulation of erythrocyte – anchored chemokine – encapsulating nanoparticles in lung metastases. **Nat. Biomed. Eng.**, London (England), v. 5, n. 5, p. 441-454, May 2021. doi: 10.1038/s41551-020-00644-2. PMID: 33199847.

ZHENG, Z. et al. Irradiation induces cancer lung metastasis through activation of the cGAS-STING-CCL5 pathway in mesenchymal stromal cells. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 11, n. 5, p. 326, May 2020. doi: 10.1038/s41419-020-2546-5. PMID: 32382015.

ZHU, M.; FU, Y.-X. The role of core TNF/LIGHT family members in lymph node homeostasis and remodeling. **Immunol. Rev.**, Oxford (England), v. 244, n. 1, p. 75-84, Nov. 2011. doi: 10.1111/j.1600-065X.2011.01061.x. PMID: 22017432.

ZINEH, I.; WELDER, G. J.; LANGAEE, T. Y. Development and cross-validation of sequencing-based assays for genotyping common polymorphisms of the CXCL5 gene. **Clin. Chim. Acta**, Amsterdam (Netherlands), v. 370, n. 1-2; p. 72-75, Aug. 2006. doi: 10.1016/j.cca.2006.01.025. PMID: 16574090.

ZLOBEC, I. et al. Next-generation tissue microarray (ngTMA) increases the quality of biomarker studies: an example using CD3, CD8, and CD45RO in the tumor microenvironment of six different solid tumor types. **J. Transl. Med.**, London (England), v. 11, p. 104, Apr. 2013. doi: 10.1186/1479-5876-11-104. PMID: 23627766.

ZLOTNIK, A.; YOSHIE, O. The chemokine superfamily revisited. **Immunity**, Cambridge (United States), v. 36, n. 5, p. 705-716, May 2012. doi: 10.1016/j.immuni.2012.05.008. PMID: 22633458.

ZOU, A. et al. Elevated CXL1 expression in breast cancer stroma predicts poor prognosis and is inversely associated with expression of TGF- $\beta$  signaling proteins. **BMC Cancer**, London (England), v. 14, p. 781, Oct. 2014. doi: 10.1186/1471-2407-14-781. PMID: 25344051.

ZOU, W. et al. PERK-Phosphorylated eIF2 $\alpha$  pathway suppresses tumor metastasis through downregulating expression of programmed death ligand 1 and CXCL5 in triple-negative breast cancer. **Cancer Biother. Radiopharm.**, Larchmont (United States), v. 32, n. 8, p. 282-287, Oct. 2017. doi: 10.1089/cbr.2017.2237. PMID: 29053414.

ZUO, H. et al. Differential regulation of breast cancer bone metastasis by PARP1 and PARP2. **Nat. Commun.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 1578, Mar. 2020. doi: 10.1038/s41467-020-15429-z. PMID: 32221289.

## APÊNDICE A

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de Familiares

Você está sendo convidada a participar da pesquisa intitulada “**Avaliação da imunocompetência local e sistêmica no prognóstico de pacientes com neoplasia de mama e estratégia de detecção precoce entre familiares de primeiro grau**”, sob a responsabilidade dos pesquisadores Rogério Agenor Araújo, Camila Piqui Nascimento, Eduarda da Costa Marinho, Etelvina Rocha Tolentino Mosca, Felipe Andrés Cordero da Luz, Thais Rezende Mendes, Patrícia Ferreira Ribeiro, Rafael Mathias Antonioli e Marcelo José Barbosa Silva.

Nesta pesquisa temos o objetivo de aprimorar a prevenção do câncer de mama através do uso dos indicadores de risco e protocolo de diagnóstico clínico com realização de mamografia digital e/ou ultrassonografia das mamas em familiares de primeiro grau de pacientes com essa neoplasia. Ademais, pretende-se avaliar as características da resposta imunológica das pacientes com câncer de mama antes e após o tratamento oncológico e a interface com os marcadores de imunohistoquímica do tumor e da axila, além de associar a evolução das pacientes frente ao tratamento sistêmico com a resposta imunológica.

Você se enquadra no grupo saudável, e responderá individualmente a um questionário semiestruturado sobre fatores de risco para câncer de mama, elaborado pelos pesquisadores. Caso seja identificado risco aumentado para desenvolvimento do câncer de mama, você será convidado a comparecer ao ambulatório especializado para investigação diagnóstica e acompanhamento. Para análise de marcadores sorológicos e avaliação de imunocompetência, serão coletados 4 mL de sangue periférico. Em nenhum momento você será identificado. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a sua identidade será preservada. Você não terá nenhum gasto ou ganho financeiro por participar da pesquisa.

O estudo apresenta como prováveis riscos a perda de identidade, nervosismo, receio e desconforto durante aplicação do questionário e realização do exame. Pretende-se, no entanto, minimizar ao máximo tais riscos, explicando detalhadamente os objetivos da pesquisa, o modo de realização do exame e possibilitando aos indivíduos a livre opção de participar. Para minimizar o risco de perda de identidade, os pesquisadores se comprometem a manter sigilo absoluto, segundo a Resolução 466/12, e a utilizar código numérico para identificação da amostra e do questionário. Pode haver leve hematoma ou desconforto no local da punção, por isso a coleta de sangue será realizada por profissional habilitado e capacitado. Os benefícios da pesquisa incluem auxílio na detecção precoce de câncer de mama em indivíduos com história familiar positiva. Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo ou necessidade de se justificar. Em caso de dúvidas a respeito da realização da pesquisa, você poderá entrar em contato com: **Rogério Agenor Araújo** – 3291.6166 ou **Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos**: Av. Nicomedes Alves dos Santos, 4545. Gávea - Uberlândia/MG. CEP: 38411-106. Fone: 4009-9039. Email: [cep@unitri.edu.br](mailto:cep@unitri.edu.br).

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

---

Participante da pesquisa

---

Rogério Agenor Araújo  
Pesquisador principal

Uberlândia, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2019.

**APÊNDICE B****Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do Grupo Controle**

Você está sendo convidada a participar da pesquisa intitulada “**Avaliação da imunocompetência local e sistêmica no prognóstico de pacientes com neoplasia de mama e estratégia de detecção precoce entre familiares de primeiro grau**”, sob a responsabilidade dos pesquisadores Rogério Agenor Araújo, Camila Piqui Nascimento, Eduarda da Costa Marinho, Etelvina Rocha Tolentino Mosca, Felipe Andrés Cordero da Luz, Thais Rezende Mendes, Patrícia Ferreira Ribeiro, Rafael Mathias Antonioli e Marcelo José Barbosa Silva.

Nesta pesquisa temos o objetivo de aprimorar a prevenção do câncer de mama através do uso dos indicadores de risco e protocolo de diagnóstico clínico com realização de mamografia digital e/ou ultrassonografia das mamas em familiares de primeiro grau de pacientes com essa neoplasia. Ademais, pretende-se avaliar as características da resposta imunológica das pacientes com câncer de mama antes e após o tratamento oncológico e a interface com os marcadores de imunohistoquímica do tumor e da axila, além de associar a evolução das pacientes frente ao tratamento sistêmico com a resposta imunológica.

Você se enquadra no grupo saudável, e responderá individualmente a um questionário semiestruturado sobre fatores de risco para câncer de mama, elaborado pelos pesquisadores. Para análise de marcadores sorológicos e avaliação de imunocompetência, serão coletados 4mL de sangue periférico. Em nenhum momento você será identificado. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a sua identidade será preservada. Você não terá nenhum gasto ou ganho financeiro por participar da pesquisa.

O estudo apresenta como prováveis riscos a perda de identidade, nervosismo, receio e desconforto durante aplicação do questionário e realização do exame. Pretende-se, no entanto, minimizar ao máximo tais riscos, explicando detalhadamente os objetivos da pesquisa, o modo de realização do exame e possibilitando aos indivíduos a livre opção de participar. Para minimizar o risco de perda de identidade, os pesquisadores se comprometem a manter sigilo absoluto, segundo a Resolução 466/12, e a utilizar código numérico para identificação da amostra e do questionário. Pode haver leve hematoma ou desconforto no local da punção, por isso a coleta de sangue será realizada por profissional habilitado e capacitado. Os benefícios da pesquisa incluem auxílio na detecção precoce de câncer de mama em indivíduos com história familiar positiva. Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo ou necessidade de se justificar. Em caso de dúvidas a respeito da realização da pesquisa, você poderá entrar em contato com: **Rogério Agenor Araújo** – 3291.6166 ou **Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos**: Av. Nicomedes Alves dos Santos, 4545. Gávea - Uberlândia/MG. CEP: 38411-106. Fone: 4009-9039. Email: [cep@unitri.edu.br](mailto:cep@unitri.edu.br).

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

---

Participante da pesquisa

---

Rogério Agenor Araújo  
Pesquisador principal

Uberlândia, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2019.

## APÊNDICE C

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do Grupo Caso

Você está sendo convidada a participar da pesquisa intitulada “**Avaliação da imunocompetência local e sistêmica no prognóstico de pacientes com neoplasia de mama e estratégia de detecção precoce entre familiares de primeiro grau**”, sob a responsabilidade dos pesquisadores Rogério Agenor Araújo, Camila Piqui Nascimento, Eduarda da Costa Marinho, Etelvina Rocha Tolentino Mosca, Felipe Andrés Cordero da Luz, Thais Rezende Mendes, Patrícia Ferreira Ribeiro, Rafael Mathias Antonioli e Marcelo José Barbosa Silva.

Nesta pesquisa temos o objetivo de aprimorar a prevenção do câncer de mama através do uso dos indicadores de risco e protocolo de diagnóstico clínico com realização de mamografia digital e/ou ultrassonografia das mamas em familiares de primeiro grau de pacientes com essa neoplasia. Ademais, pretende-se avaliar as características da resposta imunológica das pacientes com câncer de mama antes e após o tratamento oncológico e a interface com os marcadores de imunohistoquímica do tumor e da axila, além de associar a evolução das pacientes frente ao tratamento sistêmico com a resposta imunológica.

Você irá responder individualmente a um questionário semiestruturado, sobre fatores de risco para câncer de mama, elaborado pelos pesquisadores. Posteriormente, você indicará familiares de primeiro grau do sexo feminino que tenham interesse em participar da pesquisa e responder ao mesmo questionário. Caso seja identificado risco aumentado para seu familiar desenvolver o câncer de mama, ele será convidado a comparecer ao ambulatório de alto risco para investigação diagnóstica e acompanhamento. Para análise de marcadores sorológicos e avaliação de imunocompetência, serão coletados 4 mL de sangue periférico antes, ao término e após 3 meses do seu tratamento. Para análise da imunocompetência local, após sua permissão, você assinará um Termo de Responsabilidade de Retirada de Amostra Biológica do Laboratório de Patologia em que o estudo anatomopatológico da sua biópsia foi realizado. Após conclusão das análises do bloco de parafina, o mesmo será arquivado no laboratório de origem. Em nenhum momento você será identificado. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a sua identidade será preservada. Você não terá nenhum gasto ou ganho financeiro por participar da pesquisa.

O estudo apresenta como prováveis riscos a perda de identidade, nervosismo, receio e desconforto durante aplicação do questionário e realização do exame. Pretende-se, no entanto, minimizar ao máximo tais riscos, explicando detalhadamente os objetivos da pesquisa, o modo de realização do exame e possibilitando aos indivíduos a livre opção de participar. Para minimizar o risco de perda de identidade, os pesquisadores se comprometem a manter sigilo absoluto, segundo a Resolução 466/12, e a utilizar código numérico para identificação da amostra e do questionário. Pode haver leve hematoma ou desconforto no local da punção, portanto a coleta de sangue de pacientes será realizada em conjunto com os exames bioquímicos de rotina para minimizar esses riscos. O procedimento será realizado por profissional habilitado e capacitado. Os benefícios da pesquisa incluem auxílio na detecção precoce de câncer de mama em indivíduos com história familiar positiva. Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo ou necessidade de se justificar. Em caso de dúvidas a respeito da realização da pesquisa, você poderá entrar em contato com: **Rogério Agenor Araújo** – 3291.6166 ou **Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos**: Av. Nicomedes Alves dos Santos, 4545. Gávea - Uberlândia/MG. CEP: 38411-106. Fone: 4009-9039. Email: cep@unitri.edu.br.

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

---

Participante da pesquisa

---

Rogério Agenor Araújo  
Pesquisador principal

Uberlândia, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2019.



**APÊNDICE D**  
**Termo de Responsabilidade de Retirada de Amostra Biológica**

Eu, \_\_\_\_\_,  
inscrita sob CPF nº \_\_\_\_\_, nascida em \_\_/\_\_/\_\_, natural de  
\_\_\_\_\_, maior e responsável, residente no (a)  
\_\_\_\_\_, na cidade de  
\_\_\_\_\_, estado de \_\_\_\_\_, no  
pleno gozo de minhas faculdades mentais e de minha livre e espontânea vontade, autorizo o  
responsável pela pesquisa “Avaliação da imunocompetência local e sistêmica no prognóstico de  
pacientes com neoplasia de mama e estratégia de detecção precoce entre familiares de primeiro  
grau” , Dr. Rogério Agenor de Araújo, a solicitar a retirada do bloco de parafina do Laboratório  
de Patologia em que o estudo anatomopatológico da minha biópsia foi realizado, para análise  
da Imunocompetência Local, como objetivo específico da pesquisa supracitada. Após a análise,  
o bloco será armazenado no laboratório de origem conforme legislação vigente.

Eu aceitei participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente  
esclarecido.

\_\_\_\_\_  
Participante da pesquisa

\_\_\_\_\_  
Rogério Agenor Araújo  
Pesquisador principal

Uberlândia, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2019.

## APÊNDICE E

### Formulário de Pesquisa

<b>Código:</b> _____	<b>Idade:</b> _____	<b>Data de nascimento:</b> _____																																				
<b>Cor:</b> ( ) Branca ( ) Preta ( ) Parda ( ) Amarela ( ) Indígena																																						
<p><b>Qual era o seu peso entre os 20 e 30 anos de idade?</b> Peso: _____</p> <p><b>Qual é o seu peso e altura atuais?</b> Peso: _____ Altura: _____</p> <p><b>Possui algum problema de saúde?</b> ( ) Sim ( ) Não</p> <p><b>Se sim, quais?</b></p> <p><input type="checkbox"/> Pressão alta <input type="checkbox"/> Diabetes <input type="checkbox"/> Depressão <input type="checkbox"/> Colesterol Alto (Hipercolesterolemia) Outros: _____</p> <p><b>Se for diabética:</b></p> <p>Desde que idade? _____ anos Usa qual medicamento para diabetes? _____ Se usa insulina, qual tipo? _____</p>	<p><b>Consumo de bebida alcoólica</b></p> <p><input type="checkbox"/> Faz uso de bebida alcoólica esporadicamente <input type="checkbox"/> Já fez uso de bebida alcoólica, mas atualmente não bebe <input type="checkbox"/> Faz uso de bebida alcoólica <input type="checkbox"/> Não bebe</p> <p><b>Qual frequência que faz uso de bebida?</b> _____/vezes por semana</p> <p><b>Qual o número de doses por dia?</b> _____</p> <p><b>Tipo de bebida</b></p> <p><input type="checkbox"/> Pinga <input type="checkbox"/> Uísque <input type="checkbox"/> Cerveja <input type="checkbox"/> Vinho <input type="checkbox"/> Outros: _____</p> <p>Quantos anos de uso: _____ anos.</p> <p>Se é ex-etilista, parou há quanto tempo? _____</p>	<p><b>Uso de tabaco (fumo)</b></p> <p><input type="checkbox"/> Nunca fumou <input type="checkbox"/> Fuma <input type="checkbox"/> Ex – fumante <input type="checkbox"/> Faz uso regularmente de charutos, cachimbos, etc</p> <p>Número de cigarros/dia: _____ Anos de uso: _____</p> <p>Se é ex-fumante, parou há quanto tempo? _____</p> <p><b>Convive ou conviveu com fumante?</b></p> <p><input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Se sim, por quantos anos? _____</p> <p>Por quantas horas/dia? _____</p>																																				
<p><b>Faz uso regular de medicamento?</b></p> <p><input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim</p> <p><b>Se sim, quais?</b></p> <p><input type="checkbox"/> Anticoncepcional: _____ <input type="checkbox"/> Antihipertensivo: _____ <input type="checkbox"/> Antidepressivo: _____ <input type="checkbox"/> Hipoglicemiante (p/ diabetes): _____ _____ <input type="checkbox"/> Insulina: _____ <input type="checkbox"/> Antiinflamatório: _____ <input type="checkbox"/> Chás, plantas ou remédios naturais: _____ <input type="checkbox"/> Outros: _____</p> <p><b>Se usa anti-inflamatório:</b> Qual? _____ Quantas vezes na semana? _____ Por quanto tempo? _____</p>	<p><b>Realiza atividade física?</b></p> <p><input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim</p> <p>Quantas vezes na semana: _____ Qual o tipo de exercício? _____</p> <p>Quantos minutos dura a atividade física?</p> <p><input type="checkbox"/> Menos que 30 minutos/dia <input type="checkbox"/> De 30 a 60 minutos/dia <input type="checkbox"/> Mais que 60 minutos/dia</p> <p>Desde quando você pratica atividade física? _____</p> <p><b>Quantas horas em média você dorme por dia?</b></p> <p>( ) Menos que 4 horas ( ) Entre 4 e 6 horas ( ) Entre 6 e 8 horas ( ) Mais que 8 horas</p>	<p><b>Idade na primeira menstruação:</b> _____ anos</p> <p><b>Data da última menstruação:</b> __/__/__</p> <p><b>Idade da menopausa:</b> _____ anos Se estiver na menopausa, anotar o peso antes de parar de menstruar: _____ kg</p> <p><b>Número de gestações:</b> _____ <b>Número de partos:</b> _____ <b>Número de abortos:</b> _____</p> <p><b>Algum aborto foi induzido?</b> ( ) Sim ( ) Não Se sim, quantos? _____</p>																																				
<p><b>Tem ou já teve algum parente com câncer?</b> ( ) Não ( ) Sim</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th style="width: 25%;">Qual o parentesco?</th> <th style="width: 25%;">Materno ou Paterno?</th> <th style="width: 25%;">Idade ao diagnóstico</th> <th style="width: 25%;">Local do tumor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table>			Qual o parentesco?	Materno ou Paterno?	Idade ao diagnóstico	Local do tumor																																
Qual o parentesco?	Materno ou Paterno?	Idade ao diagnóstico	Local do tumor																																			
<p><b>Idade ao primeiro parto:</b> _____</p> <p>Se não teve filhos, por que? ( ) opção ( ) problema de saúde Qual o problema de saúde: _____</p> <p><b>Amamentou?</b> ( ) Sim ( ) Não</p> <p>Somar o tempo de amamentação de todos os filhos: _____ meses</p>																																						

<p><b>Realiza o autoexame das mamas?</b></p> <p>( ) Realiza 1x ao mês  ( ) Realiza ocasionalmente  ( ) Não realiza  Se realiza, desde que idade? _____ anos</p> <p><b>Visita o ginecologista/mastologista?</b></p> <p>( ) Sim, 1 vez ao ano  ( ) Sim, ocasionalmente  ( ) Nunca foi ao ginecologista/ mastologista</p>	<p><b>Realiza mamografia?</b></p> <p>( ) Anualmente  ( ) Ocasionalmente  ( ) Nunca fez mamografia  ( ) Nunca fez mamografia, mas fez ultrassonografia de mama</p> <p>Com qual idade fez esses exames pela primeira vez?  Mamografia: _____ anos  Ultrassonografia de mama: _____ anos</p> <p><b>Já fez ou faz uso do medicamento Tamoxifeno?</b></p> <p>( ) Sim ( ) Não  Por quanto tempo? _____ meses</p>																																																																																																																																																																																																																																						
<p><b>Apresenta ou já apresentou nódulos na mama?</b></p> <p>( ) Sim ( ) Não  Se sim, qual mama? ( ) Direita ( ) Esquerda ( ) Bilateral</p> <p>Resultado do Exame de Imagem (BIRADS):  _____</p> <p><b>Já fez cirurgia da mama/ovário/ trompas/útero?</b></p> <p>( ) Sim ( ) Não  Se sim, especifique:  _____  _____</p>	<p><b>Uso de terapia de reposição hormonal (menopausa):</b></p> <p><input type="checkbox"/> Nunca usou  <input type="checkbox"/> Já usou, mas atualmente não utiliza  <input type="checkbox"/> Faz uso</p> <p>Por quanto tempo: _____ anos  Qual o tipo? _____</p> <p><b>Uso de anticoncepcional</b></p> <p><input type="checkbox"/> Nunca usou  <input type="checkbox"/> Já usou, mas atualmente não utiliza  <input type="checkbox"/> Faz uso</p> <p>Por quanto tempo: _____ anos</p>																																																																																																																																																																																																																																						
<p><b>Em uma semana típica, em quantos dias você consome:</b>  (Marcar com "x")</p> <table border="1" data-bbox="236 1003 786 1507"> <thead> <tr> <th>Alimento</th> <th>0</th> <th>&lt;1</th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> <th>5</th> <th>6</th> <th>7</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Alimentos ricos em gorduras</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Frituras</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Legumes</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Verduras</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Frutas</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Carnes Vermelhas</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Frango/ Outras Aves</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Peixes</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Alimentos Integrais</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Embutidos</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Enlatados</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Defumados</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Churrasco</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Alimentos conservados c/ Sal</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Alimentos Ricos em Corantes</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Refrigerantes</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Sucos Artificiais</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Doces</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Chá Preto</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Chá Verde</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Café</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Azeite</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>	Alimento	0	<1	1	2	3	4	5	6	7	Alimentos ricos em gorduras										Frituras										Legumes										Verduras										Frutas										Carnes Vermelhas										Frango/ Outras Aves										Peixes										Alimentos Integrais										Embutidos										Enlatados										Defumados										Churrasco										Alimentos conservados c/ Sal										Alimentos Ricos em Corantes										Refrigerantes										Sucos Artificiais										Doces										Chá Preto										Chá Verde										Café										Azeite										<p><b>Já realizou algum desses exames?</b>  Se sim, especifique:</p> <p>Ressonância Magnética: ( ) Sim ( ) Não  Resultado: _____</p> <p>Cintilografia Óssea: ( ) Sim ( ) Não  Resultado: _____</p> <p>Biópsia da mama: ( ) Sim ( ) Não  Local e Resultado: _____</p>
Alimento	0	<1	1	2	3	4	5	6	7																																																																																																																																																																																																																														
Alimentos ricos em gorduras																																																																																																																																																																																																																																							
Frituras																																																																																																																																																																																																																																							
Legumes																																																																																																																																																																																																																																							
Verduras																																																																																																																																																																																																																																							
Frutas																																																																																																																																																																																																																																							
Carnes Vermelhas																																																																																																																																																																																																																																							
Frango/ Outras Aves																																																																																																																																																																																																																																							
Peixes																																																																																																																																																																																																																																							
Alimentos Integrais																																																																																																																																																																																																																																							
Embutidos																																																																																																																																																																																																																																							
Enlatados																																																																																																																																																																																																																																							
Defumados																																																																																																																																																																																																																																							
Churrasco																																																																																																																																																																																																																																							
Alimentos conservados c/ Sal																																																																																																																																																																																																																																							
Alimentos Ricos em Corantes																																																																																																																																																																																																																																							
Refrigerantes																																																																																																																																																																																																																																							
Sucos Artificiais																																																																																																																																																																																																																																							
Doces																																																																																																																																																																																																																																							
Chá Preto																																																																																																																																																																																																																																							
Chá Verde																																																																																																																																																																																																																																							
Café																																																																																																																																																																																																																																							
Azeite																																																																																																																																																																																																																																							
<p><b>Consome frutas e hortaliças desde a infância?</b></p> <p>( ) Sim ( ) Não  Se sim, desde que idade? _____ anos</p> <p><b>Outras causas de morte na família &lt;70 anos:</b></p> <table border="1" data-bbox="236 1691 786 1892"> <thead> <tr> <th>Parentesco</th> <th>Materno /Paterno</th> <th>Idade</th> <th>Causa da morte</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>	Parentesco	Materno /Paterno	Idade	Causa da morte																					<p><b>Você já foi exposto a radiação ionizante?</b></p> <p>( ) Sim ( ) Não  Ex: Radioterapia, Mamografia, Raio-x, Bomba atômica, Contato com Césio 137 (Goiânia), etc.</p> <p>Se sim, especifique:  _____</p> <p><b>Você sente-se excessivamente cansado?</b></p> <p>( ) Nunca ( ) Às vezes ( ) Sempre</p> <p><b>Você sente-se excessivamente irritado?</b></p> <p>( ) Nunca ( ) Às vezes ( ) Sempre</p> <p><b>Você se preocupa excessivamente no dia-a-dia?</b></p> <p>( ) Nunca ( ) Às vezes ( ) Sempre</p> <p><b>Você tem dificuldade em concentrar-se?</b>  (ler, ver tv, fazer atividades manuais, etc.)</p> <p>( ) Nunca ( ) Às vezes ( ) Sempre</p> <p><b>Está tendo dificuldade para lembrar-se das coisas?</b></p> <p>( ) Nunca ( ) Às vezes ( ) Sempre</p>																																																																																																																																																																																																														
Parentesco	Materno /Paterno	Idade	Causa da morte																																																																																																																																																																																																																																				

Tabela suplementar 1. Quimiocinas e suas correlações com o câncer<sup>2,3</sup>

Quimiocina	Correlação (significativa)	Referência
<b>MCP1/ CCL2</b>	<b>Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP1)</b>	
	Correlação com doenças inflamatórias e tumores (Revisão)	195
	Regulada pelo TNF na célula tumoral e pelo GM-CSF na célula imunológica, <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	194
	Quimiotaxia + de macrófagos, pró-tumoral, tecido humano, <i>in vitro</i>	134
	Ativa neutrófilos contra células neoplásicas, em animais, antitumoral	55
	Tumor colorretal é pró-tumoral? <i>In vitro</i>	26
	Tumor de intestino = inibição da MCP1/CCL2 reduz metástases a distância, em animais	185
	Tumor de ovário, produção de MCP1/CCL2 = + migração tumoral, em animais	170
	Tumor de mama RH+ a exposição ao estrogênio = + MCP1/CCL2 = + angiogênese/proliferação, <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	61
	Tumor de mama + MCP1/CCL2 = + metástases pulmonares, dependente de IL-6 e VEGF, em animais	14
	Tu de mama TN alta expressão de MCP1/CCL2 = Fsp1 (proteína 1 específica de fibroblasto), mau prognóstico, análise tecido humano	193
	Flutuações na expressão no TME da mama = desequilíbrio em Th1 e Th2, análise tecido humano	121
	Tumor de mama = bloqueio da MCP1/CCL2 inibe a migração de precursores de fibroblastos CCR2+ = reduz o crescimento da neoplasia, <i>in vitro</i>	1
	Tumor de mama e uso de MCP1/CCL2 via nasal = + metástases pulmonares, em camundongos; uso <i>in vitro</i> desta quimiocina = morte de células tumorais mediada por neutrófilos	93
	Tumor de mama células RE+ e IL-17 = macrófagos M1 e resposta Th1 antitumorais. Células TN, reduz citrulina, macrófagos M2 = secreção de VEGF e MCP1/CCL2, <i>in vitro</i>	70
	Tumor de mama = MCP1/CCL2 ativa da via Wnt/ $\beta$ -catenina = células tumorais da mama mais resistentes, em modelos animais	80
	Tumor de mama = resistência à quimioterapia intensificada por vesículas extracelulares, contendo a proteína anexina A6 = induz as células endoteliais à produção de MCP1/CCL2, em animais	85
Tumor de mama = MCP1/CCL2 capacidade de intensificar a evolução da neoplasia (Revisão)	166	
Tumor de de mama = MCP1/CCL2 e outras citocinas = transforma o epitélio da mama em células invasoras mesenquimais, <i>in vitro</i>	94	
<b>MIP1<math>\alpha</math>/ CCL3</b>	<b>Macrophage Inflammatory alpha-1 Protein (MIP1<math>\alpha</math>)</b>	
	Atua nos receptores CCR1 e CCR5	32
	Regula a quimiotaxia de monócitos para áreas inflamadas	143; 160
	Recruta linfócitos para locais de infecção, células T CD8+ para linfonodos e promove a diferenciação de células progenitoras mielóides na medula óssea	169
	Quimiocina antitumoral. Reduz a proliferação celular de câncer de mama, por provável ativação das proteínas reparadoras do gene supressor TP53, em animais	122
	Experimento em ratos demonstrou aumento significativo de MIP1 $\alpha$ /CCL3 da infiltração de células T CD4+ e CD8+ no local do tumor primário e correlação inversa com o tamanho do tumor	6
	Estudo, com validação <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> , utilizando cânceres de mama identificou a MIP1 $\alpha$ /CCL3 como o principal mediador do epitélio neoplásico e os tecidos periféricos para a indução de outras quimiocinas pró-tumorais como a MCP1/CCL2	42
Estudo experimental com inibidores de PARPs demonstrou que a deleção de PARP2 aumenta as células mielóides imaturas, prejudicando a expressão de MIP1 $\alpha$ /CCL3, através do aumento da repressão transcricional por $\beta$ -catenina, criando um meio imunossupressor, aumentando a população de células Treg, reduzindo a população de células Th1 imunoativadas pelo IFN- $\gamma$	208	

Continua

<sup>2</sup> Legenda após a tabela completa, na página 189.<sup>3</sup> As referências bibliográficas desta tabela se encontram após a tabela, na páginas 190.

Continuação

<b>MIP1<math>\alpha</math>/CCL3</b>	A ação de MIP1 $\alpha$ /CCL3 <i>in vivo</i> foi estudado por meio de experimentos de xenoinxerto de tumor de mama, e demonstrado o crescimento de células de câncer de mama, através do recrutamento de MDSCs por esta quimiocina, com ativação da via PI3K-Akt-mTOR, intensificando a EMT e promovendo a migração e invasão das células tumorais	116
	Tumor de mama = perda da expressão desta quimiocina = intensifica a proliferação celular e progressão, em análise de tecido humano	176
	Tumor de esôfago = alta expressão de MIP1 $\alpha$ /CCL3 = mais invasivos e maior número de TAMs infiltrantes, em análise de tecido humano por IH	87
	Tumor de língua induzido em camundongos = sem expressão desta quimiocina = menor incidência da neoplasia	32
	Hiperexpressa no plasma de pacientes com mieloma múltiplo, com maior inibição da eritropoiese	109
	Hiperexpressa na progressão do mieloma múltiplo e na ativação dos osteoclastos, com mais lesões osteolíticas	173
	Hiperexpressa por linfócitos T nas leucemias linfoides crônicas	18
<b>MIP1<math>\beta</math>/CCL4</b>	<b>Macrophage Inflammatory beta-1 Protein (MIP1<math>\beta</math>)</b>	
	Ligante do receptor CCR5	133
	Bloqueio de CCR5, em modelo de rato nude, atenua a proliferação e migração de células metastáticas para o osso, pela indução da apoptose	148
	Hiperexpressão de MIP1 $\beta$ /CCL4, indutora de fibroblastos positivos para CCR5, em linhagem de células de câncer de mama murino = mais metástases preferenciais para o osso	158
	Expressões de SNPs do gene CCL4 em mulheres gera tumores diferentes, com mais metástases linfonodais axilares, ou maior risco de metástase à distância, ou tumores mais indiferenciados	74
	Hiperexpressão em mulheres de MCP1/CCL2, MIP1 $\beta$ /CCL4 e IL-13 = maior risco de câncer de mama RE+; hiperexpressão de MIP1 $\beta$ /CCL4 e IL-13 = maior risco dos tumores RE negativo	96
	Hiperexpressão de MIP1 $\beta$ /CCL4 e IL-8/CXCL8 = maior risco de tumores de mama HER2+ em mulheres	21
	Hiperexpressão de MIP1 $\beta$ /CCL4 em células tumores de intestino, em animais = comprometimento precoce do fígado	9
	Tumores humanos de intestino, III e IV = alta expressão de CCR5 = pior prognóstico; hiperexpressão de MIP1 $\alpha$ /CCL3 e MIP1 $\beta$ /CCL4 pré-operatório = pior sobrevida	142
Hiperexpressão de MIP1 $\alpha$ /CCL3, MIP1 $\beta$ /CCL4 e Rantes/CCL5 no melanoma em humanos = recrutamento de células T = maior resposta à terapia de bloqueio do <i>checkpoint</i> imunológico	57	
<b>Rantes/CCL5</b>	<b>Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed, and Secreted (Rantes)</b>	
	Produzida pelas células troncos mesenquimais no TME, e por ação parácrina, estimula a progressão tumoral	84
	Se síntese truncada desta quimiocina, não há sinalização em monócitos humanos CCR1+, mas ainda tem atividade em macrófagos CCR1/CCR5+	157
	Em modelos de camundongos com melanoma a secreção da Rantes/CCL5 é mais tardia, e as demais quimiocinas em algumas horas. Se expressão reduzida pelos fatores de transcrição RUNX e CBF $\beta$ = maior citotoxicidade das células T e NK = menor progressão dos tumores	<a href="#">161</a>
	Rantes/CCL5 secretada por TAMs = promove a EMT e renova as células tronco do câncer de próstata <i>in vitro</i> , com pior prognóstico	76
	Rantes/CCL5 regula positivamente a transcrição da metaloproteinase MMP9 = ativa a angiogênese <i>in vivo</i> , inibe a resposta das células T e aumentando o crescimento do carcinoma mamário murinho	3
	Células-tronco do tecido adiposo humano ativam a produção de Rantes/CCL5 = ativação de MMP9, intensificando a invasão do tumor de mama	149
	Cadelas com tumores de mama = hiperexpressão de Rantes/CCL5 = mais metástases e menor sobrevida	7
	Rantes/CCL5 e MCP1/CCL2 hipoexpressas nas células do ducto epitelial normal da mama, mas altamente expressas nas células do tumor primário desta glândula	166
	Hiperexpressão de Rantes/CCL5 sinaliza maior migração de macrófagos no câncer de mama, com doença mais avançada (Revisão)	135
	Camundongos com câncer de mama 4T1 submetidos a irradiação corporal total = ativação de células mesenquimais induzidas pela Rantes/CCL5, com intensificação de metástases pulmonares	206
	Mulheres com câncer de mama em quimioterapia neoadjuvante = mais remissão completa patológica (pRC) naquelas com maior expressão de PD-L1 e Rantes/CCL5	35
	Pacientes com adenocarcinoma de pulmão e expressão moderada/alta de Rantes/CCL5/CCR5 = maior risco de morte, mesmo em células deficientes em TGF- $\beta$	15

Continua

continuação

<b>Rantes/ CCL5</b>	Hiperexpressão de Rantes/CCL5/CCR5 = aumenta a infiltração de monócitos/macrófagos em pacientes com glioblastoma = pior prognóstico	90
	Hiperexpressão de Rantes/CCL5 nos pacientes com câncer gástrico = pior prognóstico	179
	Hiperexpressão de Rantes/CCL5 em pacientes com câncer colorretal = maior disseminação tumoral	24
	Deficiência de Rantes/CCL5 em camundongos com câncer de intestino = atrasou o crescimento do tumor e as metástases, aumentando a expressão das células T CD8+	203
	Hiperexpressão de Rantes/CCR5 em carcinoma adenoide salivar = maior invasão perineural e metástases à distância	49
	Pacientes com hepatocarcinoma = hiperexpressão de trombopoietina MIP1β/CCL4, Rantes/CCL5 e Ena78/CXCL5, mas hipoexpressão de MCP1/CCL2, em comparação com pacientes cirróticos sem a neoplasia	155
<b>Eotaxina/ CCL11</b>	<b>Eosinophil chemotactic proteins (Eotaxina)</b>	
	Secretadas por fibroblastos e células musculares lisas, endoteliais e epiteliais. Fazem a quimiotaxia de eosinófilos, dependentes de CCR3 secretores de granzima e proteínas citotóxicas, em resposta às IL-5, IL-33, Eotaxina/CCL11, IFN-γ e TNF, induzindo a morte de células tumorais	162
	Eosinófilos se ativados pela Eotaxina/CCL22 = ativam o crescimento de tumor, com migração de células Treg, aumento da expressão deIDO, e síntese de EGF, VEGFA ou o TGF-β1	56
	Hiperexpressão da Eotaxina/CCL11 induzida pela ovalbumina em experimento em camundongos Balb/c injetados com células 4T1 de tumor de mama = implante das metástases pulmonares dependente quimiocina	10
	Hiperexpressão de Eotaxina/CCL11 e CXCL14 em co-cultura de CAFs com células de câncer de mama = crescimento das células de tumorais, resistência a drogas e mais metástases	115
	Eotaxina/CCL11 e CXCL14 induzidas nos CAFs promovem o crescimento celular e as metástases do câncer de mama <i>in vitro</i>	115
	Eotaxina/CCL11, e outras quimiocinas, interagem como dipeptidil peptidase (DPP4) = regulador negativo do tráfego de linfócitos	69
	Inibidores da DPP4 = hipoglicemiante e supressor do crescimento de hepatocarcinoma em estudo pré-clínico	88
	MDSCs produzem Eotaxin/CCL11, com intensificação das metástases, pela indução da EMT em modelos animais induzidos à câncer de pulmão de humanos	101
	MDSC no TME do câncer de próstata expressam alta concentração da Eotaxina/CCL26, facilitando a progressão tumoral	79
	Eotaxina/CCL11, e outras 33 proteínas séricas, exceto a CA125, não foram efetivas para diferenciar lesões benignas de malignas em mulheres com massas ovarianas	92
<b>TARC/ CCL17</b>	<b>Thymus- and activation-regulated chemokine (TARC)</b>	
	Expressa no timo, produzida pelas células dendríticas, endoteliais, queratinócitos e fibroblastos, ligante do CCR4, induzindo resposta do tipo Th2	156
	Tumor de mama com superexpressão de REα = indução da secreção de TARC/CCL17 e MIP3α/CCL20 e repressão de TGF-β3 = ativação de linfócitos T CD8+ = inibição na progressão das metástases ósseas em camundongos. Achados confirmados em pacientes com câncer de mama	16
	Em camundongos o desenvolvimento de malignidade primária na mama pode ocorrer pela deleção do gene supressor de tumor HIC1 = células da glândula secretam CXCL14 = atrai CAFs = secretores de TARC/CCL17 = indução da transição epitelial-mesenquimal	181
	Camundongos com câncer de mama induzidos e análises <i>in vitro</i> = silenciamento do receptor de prolactina = redução das metástases = aumento de sobrevida. TARC/CCL17 atrai Treg, mas na inibição da prolactina = redução de Treg para o tumor pela inibição desta sinalização da TARC/CCL17	23
	Linfomas difusos de grandes células B EBV+ = intensa atuação da Eotaxina/CCL22 e da TARC/CCL17, ligantes de CCR4 = atrai Treg CCR4+ propiciando a evasão imunológica	67
	Linfoma de Hodgkin = células de Reed-Sternberg atraem denso infiltrado inflamatório secretando TARC/CCL17 e diversas outras citocinas	196
	Hiperexpressão de TARC/CCL17 e de IL-10 = associada com baixa sobrevida dos pacientes com linfoma de Hodgkin	71
	Em linhagens de células de câncer de intestino CCR4+ = a indução com TARC/CCL17 = aumenta a produção da proteína RhoA = indutora da quimiotaxia destas células neoplásicas	5
	Aumento sérico de TARC/CCL17 em pacientes com melanoma metastático em imunoterapia com células dendríticas = maior sobrevida livre de progressão	31
<b>MIP3α/ CCL20</b>	<b>Macrophage Inflammatory alfa-3 Protein</b>	
	Expresso pelo gene no cromossomo 2q35-q36, codificando duas isoformas com atividade biológica. Não é secretada em linfócitos T, monócitos ou neutrófilos <i>naive</i> espontaneamente. Linfócitos T expostos ao vírus da gripe e à IL-2 secretam as duas isoformas, mas apenas a IL-2 respondem de forma inconsistente	139
	MIP3α/CCL20 se liga e ativa o receptor CCR6 acoplado à proteína G (GPCR), mas esta ativação pode ser alostérica, com recrutamento de Leucócitos nas infecções bacterianas	183
	Em cultura celular de carcinoma TN de pacientes a modulação do fenótipo mais agressivo, pelas vias de sinalização IL-6/STAT3, Notch e EGFR, tem a colaboração da MIP3α/CCL20	78

Continua

continuação

<b>MIP3α/ CCL20</b>	Em camundongos com câncer de mama TN a expressão do antígeno humano R (HuR), fator osteolítico = disseminação das células neoplásicas, pela ativação da MIP3α/CCL20. E houve redução de sobrevida em mulheres com câncer de mama com alta expressão desta quimiocina	95
	Análise de tumores TN de mulheres após a quimioterapia neoadjuvante = hiperexpressão da MIP3α/CCL20 colaborou na renovação das células-tronco do tumor e com a quimiorresistência, por ativação de NF-κB e aumento das proteínas de efluxo do taxano	25
	Hipoexpressão de MIP3α/CCL20 induz a migração celular e a hiperexpressão promove a proliferação celular	124
	A hiperexpressão de MIP3α/CCL20, por mecanismo parácrino, pode induzir a transição epitelial-mesenquimal das células epiteliais da mama	125
	Eixo MIP3α/CCL20-CCR6 está envolvido em doenças inflamatórias e infecciosas, e na progressão do câncer, possibilitando a migração e proliferação das células cancerosas	83
	Pacientes com câncer de intestino operados a co-expressão de MIP3α/CCL20 e de IL-8/CXCL8 reduz a expressão da E-caderina nos tecidos tumorais, favorecendo a evasão celular. Mas a expressão isolada de cada uma delas não é suficiente para induzir a EMT	28
	No adenocarcinoma de pâncreas a expressão do fator de transcrição NF-κB induz resistência à apoptose, reduzindo a eficácia da quimioterapia, e o gene MIP3α/CCL20 é modulador desta via, atraindo células imunes que propiciam microambiente pró-tumoral	53
	Análise de tecido do câncer gástrico a expressão da proteína adaptadora do tipo Crk (CrKL), outra reguladora da EMT, é induzida pela MIP3α/CCL20	60
	No melanoma as interações do CCR6 com a MIP3α/CCL20 são essenciais para a progressão do tumor	126
	Agressividade dos gliomas cerebrais pode ser mensurada pela expressão das proteínas hipotaurina ou cisteamina dioxigenase, indutoras da secreção de MIP3α/CCL20, via NF-κB	163
	Em culturas de células de câncer de ovário CCR6+ os macrófagos aumentam a produção de MIP3α/CCL20 promovendo a intensificação da EMT	113
	MIP3α/CCL20 pode ser ativado pelo fator de transcrição de segmentação, Engrailed-2 (EN2), aumentando significativamente a proliferação e migração no câncer de intestino	98
	Nos tumores hepáticos a hipóxia induz à EMT, com regulação positiva da MIP3α/CCL20, induzindo migração de macrófagos de fenótipo imunossupressor para o TME	63
	Em experimentos <i>in vitro</i> a MIP3α/CCL20 revelou-se pró-angiogênica, ligando-se ao CCR6 nas células endoteliais portais, em infecção crônica por HCV e hepatocarcinomas de origem alcoólica	12
<b>GroAlfa/ CXCL1</b>	<b>Growth-Regulated Oncogene-<i>alpha</i> (GroAlpha)</b>	
	GroAlfa/CXCL1 se apresenta como monômero e dímero reversíveis, dependente do glicosaminoglicanos (GAG); se liga ao receptor CXCR2. Recruta e ativa neutrófilos para combater patógenos nos tecidos	159
	GroAlfa/CXCL1 é hiperexpressa pelos fibroblastos relacionados ao câncer (CAFs)	40
	GroAlfa/CXCL1 também é expressa por células endoteliais humanas, influenciando a angiogênese, pela regulação das vias do EGF e do ERK1/2	132
	Em modelos de tumores de tumores sólidos em camundongos observou-se maior produção de GroAlfa/CXCL1, MCP1/CCL2 e TIMP-1, resultando em mais angiogênese e crescimento tumoral	186
	No tumor de mama TN o EGF11 induz pior prognóstico pela regulação positiva da IL-17A, GroAlfa/CXCL1 e CXCL2, ativadoras de células mielóides CD11b+Gr1+, promotoras da sobrevivência celular e de metástase	29
	Outros subtipos de câncer de mama superexpressam GroAlfa/CXCL1 e CXCL2. A lise tumoral produz TNF-α, com aumento de GroAlfa/CXCL1 e CXCL2, via NF-κB, nas células residuais pós quimioterapia, induzindo crescimento e quimiorresistência	2
	Osteócitos produzem fatores proliferativos e migratórios de células de câncer de mama, como a GroAlfa/CXCL1 e a CXCL2, ativadas em culturas com atividade mecânica e não estatística, com potencial para conduzir a metástase para o osso	38
	Camundongo com câncer de mama submetidos a ruptura circadiana crônica há aumento do crescimento e disseminação de células cancerosas para o pulmão, com hipo-regulação de IFN-γ, CXCL13, TNF e GroAlfa/CXCL1 e hiper-regulação de CXCL3, CXCL5, IL-10 e IL-1B	59
	A adipocitocina (vinfastina), expressa nos tecidos peri-tumorais da mama, associada a pior prognóstico, por promover a diferenciação do fenótipo M2 das células monocíticas, pela indução de ERK e GroAlfa/CXCL1, aumentando a EMT e a migração das células neoplásicas	182
	Análise em camundongos e mulheres com câncer de mama identificou, entre 32 quimiocinas e citocinas, a GroAlfa/CXCR1 como a mais abundantemente secretada por TAMs, com promoção do câncer de mama pela ativação do EMT	177

Continua

continuação

<b>GroAlfa/ CXCL1</b>	Em experimentos <i>in vivo</i> , em ratas, as células Th17 regulam positivamente a produção de GroAlfa/CXCL1 e diversas outras citocinas, como IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IFN- $\gamma$ , GM-CSF e TNF- $\alpha$ , durante a progressão do câncer de mama	117
	Expressão de GroAlfa/CXCL1, e de outras quimiocinas, é maior no câncer de intestino do que em tecidos colorretais normais, variando de prognóstico conforme o estágio do tumor	197
	Nos pacientes com câncer de intestino com metástases hepáticas há maior sinalização NF- $\kappa$ B, e maior expressão da GroAlfa/CXCL1 hepática, com acúmulo de PMN-MDSCs e escassez de células T e NK	199
	O uso de metformina inibe a secreção de GroAlfa/CXCL1 em células de carcinoma de esôfago, inibindo a atividade das MDSCs	118
	Em pacientes com câncer gástrico a ativação aberrante de GroAlfa/CXCL1 e de IL-8/CXCL8 pelos fibroblastos no TME se correlacionou com pior sobrevida	136
	No câncer de ovário o fator de transcrição Snail induz a transição EMT, pela secreção de GroAlfa/CXCL1 através da via NF- $\kappa$ B	171
	No câncer de próstata as células estromais adiposas, CXCR1 e CXCR2 positivas, migram para o TME, atraídas por GroAlfa/CXCL1 e IL-8/CXCL8, e nos pacientes obesos com esta neoplasia há maior expressão destas quimiocinas no epitélio tumoral	204
	Análise em tecido tumoral humano mostrou que os tumores de bexiga que expressam mais GroAlfa/CXCL1 também são nitidamente mais agressivos	131
<b>ENA78/ CXCL5</b>	<b>Epithelial-derived neutrophil-activating protein 78 (ENA78)</b>	
	ENA78/CXCL5 é secretada por células da mama, medula óssea, endotélias, osteoblastos, fibroblastos, neutrófilos, monócitos, macrófagos e plaquetas; classificada como pró-tumoral; receptor preferencial é o CXCR2, ou o receptor atípico ACKR1/DARC que sequestra o ligante	152
	ENA78/CXCL5 contém 2 polimorfismos de nucleotídeo único (rs352046, rs425535) com distribuição diferente entre as populações europeia e americana	207
	ENA78/CXCL5 intensifica a angiogênese necessária para a recuperação das vilosidades intestinais, regulado pelo EGFR. Em camundongos submetidos a ressecção parcial do intestino a parte remanescente expressa 9 vezes mais ENA78/CXCL5 após a introdução do fator de crescimento EGF	127
	Método de co-cultura <i>ex-vivo</i> de células do câncer de mama em ossos de camundongos identificou a ENA78/CXCL5 como possível indutora da colonização metastática	152
	ENA78/CXCL5 induz invasão mesenquimal e migração da neoplasia de mama	72
	Análise de seromas na mama residual após a cirurgia do câncer, em comparação com seromas de lesões benignas, demonstrou maior expressão de ENA78/CXCL5, TIMP-2 e leptina	175
	Estudo em animais mostrou redução na expressão de ENA78/CXCL5 e de CXCL12 nos linfonodos axilares, sugerindo que na neogênese linfonodal haja redução de ligantes estimuladores à migração celular, na tentativa de minimizar a disseminação	47
	O eixo ENA78/CXCL5/CXCR2/IGF2/VEGF instiga a migração de células do câncer de esôfago para outros órgãos, dependente de CAFs	191
	O fator de transcrição básico de leucina (BATF3) promove a transcrição de ENA78/CXCL5, acelera o recrutamento de neutrófilos pelo eixo ENA-78/CXCL5-CXCR2, colaborativos no desenvolvimento do câncer de intestino na colite crônica	103
	Nos tumores colorretais a superexpressão de ENA78/CXCL5 aumenta a densidade microvascular, em modelo animal, possibilitando a maior disseminação	22
	A expressão da ENA78/CXCL5 está elevada em tecidos tumorais gástricos, e associada a diferenciação tumoral e metástases linfáticas	123
	Há maior expressão sérica, com significância estatística, de ENA78/CXCL5 e CXCL12 em pacientes com câncer gástrico avançado, comparados àqueles com câncer precoce, metaplasia intestinal ou em voluntários saudáveis	100
	Pacientes com câncer de próstata inicial, no pré-operatório, apresentam hiperexpressão de MCP1/CCL2, ENA-78/CXCL5 e TGF- $\beta$ , em comparação com controles saudáveis, e no pós-operatório os níveis de MCP1/CCL2 e ENA78/CXCL5 diminuem e o TGF- $\beta$ aumenta	120
	A expressão do receptor de androgênio induz a progressão do câncer de células renais, com recrutamento de células endoteliais vasculares, pela secreção de ENA78/CXCL5, via AKT e NF- $\kappa$ B, conforme experimentos em camundongos e pesquisa em amostras humanas	58
	A superexpressão de ENA78/CXCL5 intensifica a proliferação e migração de células HeLa no câncer do colo de útero <i>in vitro</i> , pela regulação da expressão de genes relacionados ao tumor	43
	No hepatocarcinoma a superexpressão do receptor do ácido retinóico atenua a proliferação do tumor, com redução de ENA78/CXCL5, $\beta$ -catenina, c-Myc, Ciclina D1 e N-caderina	105
	ENA78/CXCL5 é regulada positivamente nos estádios avançados de melanomas	45
Pacientes com câncer de pulmão não pequenas células (NSCLC), nos estádios I e II, a hiperexpressão de ENA78/CXCL5 correlacionou com menor sobrevida de forma significativa	89	

Continua



continuação

<b>ENA78/ CXCL5</b>	Meta-análise observou que a hiperexpressão de ENA78/CXCL5 tem correlação com a menor sobrevida de pacientes com colangiocarcinoma e hepatocarcinoma, mas não nos pacientes com cânceres de pulmão e colorretal	73
	Na policitemia vera há uma “assinatura de genes de citocinas” com aumento da expressão de MIP1 $\alpha$ /CCL3, Rantes/CCL5, ENA78/CXCL5, entre outras quimiocinas	167
<b>IL-8/CXCL8</b>	<b>Interleukin-8 (IL-8)</b>	
	IL-8/CXCL8 sinaliza pela via PI3K/Akt, ou pela ativação de MAPK e EGFR com sinalização de Ras-GTPase em células neoplásicas, modulando angiogênese e migração	112
	A IL-8/CXCL8 é ligante dos receptores CXCR1 e CXCR2 ativa o fator nuclear $\kappa$ B, mediador de inflamação e angiogênese	46
	Várias quimiocinas CXC se liguem ao CXCR2, mas apenas a IL-8/CXCL8 e a CXCL6 se ligam ao CXCR1	108
	IL-8/CXCL8, e outras quimiocinas, modulam migração e proliferação celular em inúmeros cânceres, como o de mama, próstata e leucemia	4
	Em cultura celular a IL-8/CXCL8 foi regulado pelo EGF nas células tumorais da mama, com efeito promotor do estrogênio e progesterona	8
	A expressão de IL-8/CXCL8 e de GM-CSF, em cultura celular, são significativamente aumentados no câncer de mama HER2+, acelerando a invasão	86
	O receptor HER pode ser sinalizado por transativação de CXCR1 e CXCR2 após a ligação da IL-8/CXCL8	165
	IL-8/CXCL8 é secretada por TAMs, induzindo invasão e EMT no tecido tumoral e nos linfonodos axilares, em animais e mulheres com câncer de mama	140
	Genes expressos pelos CAFs, em pacientes com câncer de mama, com resposta inflamatória ativada por IFN- $\gamma$ e pela via NF- $\kappa$ B, sinalizam resistência ao tratamento pela hiperexpressão de IL-8/CXCL8, MIG/CXCL10 e IP-10/CXCL11	192
	Pacientes com câncer de mama TN com maior expressão de CXCR1/2 houve pior sobrevida, e a remissão patológica completa, após a neoadjuvância, foi mais alta naquelas com menor expressão de IL-8/CXCL8	178
	No câncer de endométrio há supressão do RE $\alpha$ em co-cultura com TAMs e IL-8/CXCL8	174
	As raras células neuroendócrinas da próstata degeneraram para tumores na sinalização da IL-8/CXCL8, associada a mutação do gene TP53	51
	No câncer de colo de útero a expressão dos genes de RIPOR2 e IL-8/CXCL8 foram significativamente correlacionados ao mau prognóstico	128
	Nos pacientes com câncer de pulmão, estádios I e II, a maior expressão de IL-8/CXCL8, e de outros citocinas, foi associada a sobrevida significativamente mais curta	13
	A expressão do gene supressor de tumor DACH1 (Dachshund homologous human) no adenocarcinoma de pulmão correlacionou-se com a hipoexpressão de IL-8/CXCL8, em amostras de tecidos tumorais, com maior sobrevida dos pacientes	111
	Na mutação do TP53 há hiperexpressão de VEGF e de IL-8/CXCL8, refletindo em menor sobrevida nos pacientes com câncer de pulmão não pequenas células	198
	Em cultura de células HCT116 de câncer colorretal humano a hiperexpressão de IL-8/CXCL8 intensifica a proliferação celular	33
	Há aumento da expressão da IL-8/CXCL8 em pacientes com adenocarcinoma de esôfago, e também em portadores de refluxo e de displasia de Barrett	144
	Entre os pacientes com carcinoma de orofaringe detectou-se altas concentrações de IL-8/CXCL8 na saliva podendo ser considerado como um biomarcador desta neoplasia	168
	Nas neoplasias hematológicas, como na Leucemia mielóide aguda, o nível médio de IL-8/CXCL8 no soro dos pacientes é maior, em comparação com voluntários saudáveis, sendo um indicador de maior recorrência	97
<b>MIG/CXCL9</b>	<b>Monokine induced by interferon-Gama (MIG)</b>	
	MIG/CXCL9 pode inibir a angiogênese, com efeitos antitumorais	202
	A modulação da expressão da MIG/CXCL9 é quinase dependente de cálcio/calmodulina (CaMKK2), e na deleção desta via há hiperexpressão de genes codificadores de MIG/CXCL9 e de IP10/CXCL10, com atração de células Th1, T CD8+ e NK, antitumorais	151
	MIG/CXCL9 também é secretada pelos osteoblastos, contra regulando diretamente a sinalização de VEGF, suprimindo a angiogênese e a osteogênese	75
	Há maior e significativa expressão sérica da MIG/CXCL9 em pacientes com câncer de mama inicial, RE negativo, comparada à voluntárias saudáveis	153
	Nas portadoras de tumor de mama TN, em tratamento neoadjuvante, a expressão de genes MIG/CXCL9, e de outras citocinas, foi associado a mais linfócitos infiltrantes tumorais (TILs) e maior remissão patológica completa	44
	Em pacientes com câncer de mama, pré neoadjuvância, os TAMs no TME, via STAT6, induziam regulação negativa de CCL17 e CCL18, mas após o tratamento, na análise do tumor residual, os TAMs passaram a expressar, vias Jak1-STAT1 e NF- $\kappa$ B, mais MIG/CXCL9, IL-6 e TNF- $\alpha$	107
	A radioterapia também é capaz de aumentar a expressão local de múltiplas citocinas, incluindo IFN- $\gamma$ e suas quimiocinas induzíveis, como MIG/CXCL9, IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11	66

Continua

continuação

<b>MIG/CXCL9</b>	Alta expressão do FOXP1 (regulador transcricional dos linfócitos) nas portadoras de câncer de mama, induziu significativamente menos TILs, menor expressão de várias quimiocinas, como a MIG/CXCL9, maior expressão de IL-10 e TGF- $\beta$ , e evolução desfavorável	34
	No melanoma a expressão da MIG/CXCL9 pelos macrófagos facilita a infiltração tumoral de células T produtoras de IFN- $\gamma$	189
	Em pacientes com melanoma de mucosa metastático um conjunto de 12 genes relaciona-se com a regulação imunológica e angiogênese, diferenciando pacientes com boa resposta ao tratamento	164
	Hiperexpressão de MIG/CXCL9 no tecido tumoral se correlaciona com uma melhor resposta à terapia de bloqueio de PD-L1, nos pacientes com melanoma	129
	Hiperexpressão de MIG/CXCL9 nos pacientes com melanoma induzem alta densidade pré-tratamento de células T CD8+ para o TME	36
	No câncer de bexiga as quimiocinas MIG/CXCL9, IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11 contribuem com o acúmulo de células T CD8+, antitumorais, mas também pela migração e ativação de MDSC e Treg, pró-tumorais	138
	Em camundongos com câncer de bexiga o bloqueio de CXCR3 exacerba o crescimento de tumores, e a injeção intratumoral de MIG/CXCL9 e IP10/CXCL10 recombinante, com o anticorpo anti-PD1, inibe o crescimento das neoplasias nestes animais	62
	No entanto, no câncer de próstata, em animais, a MIG/CXCL9 promoveu o crescimento tumoral pela inibição das células T	172
<b>IP10/CXCL10</b>	<b>Interferon gamma-induced protein 10 (IP10)</b>	
	IP10/CXCL10 é ligante do CXCR3. A superexpressão do CXCR3 nas células cancerosas da mama contribui para a disseminação da neoplasia, mas a IP10/CXCL10 exógena não promove metástase pulmonar nos modelos animais	205
	O IFN- $\gamma$ induz as MSCs para a síntese de MIG/CXCL9, IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11, ligantes de CXCR3, e o TNF- $\alpha$ induz a expressão de Rantes/CCL5, ligante CCR5. Mas a combinação de IFN- $\gamma$ e TNF- $\alpha$ induz expressão forte e coordenada destas quatro quimiocinas com fenótipo Th1	81
	IP10/CXCL10 e outras citocinas pode ativar eosinófilos e estes produzem TARC/CCL17 e CCL22, atraindo células Th2. A ativação da via STAT1, por IFN- $\gamma$ mais TNF, leva à produção de MIG/CXCL9, IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11, e atraem células Th1. Eosinófilos Th1 ativados recrutam células T CD8+ para o TME, mas não os eosinófilos indutores de Th2	20
	Nível de IP10/CXCL10 foi positivamente correlacionado com o status RE, mas com proliferação de células tumorais mamárias resistentes ao tamoxifeno (TMX), em estudo <i>in vitro</i>	187
	Estudo experimental demonstrou que células metastáticas do câncer de mama CXCR3+ nos pulmões secretam IL-1 $\alpha/\beta$ induzindo os fibroblastos a secretarem IP10/CXCL10 e MIG/CXCL9, intensificando a migração pulmonar de células tumorais CXCR3+	146
	A via transcricional NF- $\kappa$ B ativada se correlaciona com aumento da concentração de IP10/CXCL10, <i>in vitro</i>	82
	O câncer de mama TN, mais agressivo, induz supressão de GM-CSF, em modelos animais, com hipoexpressão de macrófagos M1 antitumorais e das quimiocinas IP10/CXCL10 e MCP1/CCL2	184
	Em mulheres com tumores de mama RE+ a hiperexpressão de IP10/CXCL10, e de CXCR3, mensurada por IH, resultou em melhora no prognóstico, maior resposta ao tamoxifeno (TMX), em comparação àquelas com expressão fraca desta quimiocina	68
	Pacientes com carcinoma seroso de alto grau de ovário CXCR3+, que hiperexpressam MIG/CXCL9 e IP10/CXCL10, apresentaram mais TILs, e maior sobrevida global, em comparação àquelas com hipoexpressão	145
	Em modelos animais a metilação do DNA destas células de câncer de ovário reduz a produção de MIG/CXCL9 e IP10/CXCL10, minimizando o infiltrado do tipo Th1	147
	Em camundongos enxertados de células do câncer colorretal para carcinomatose peritoneal houve prevenção na disseminação com dieta rica em gordura, que aumentou a fagocitose, pela ativação de TLR4 e IP10/CXCL10, em macrófagos M1 do tecido adiposo	188
	Células de melanoma CXCR3+ apresentam tropismo para o cérebro pois os astrócitos são secretores de IP10/CXCL10 em camundongos e humanos	<a href="#">37</a>
	A sinalização IP10/CXCL10/CXCR3, pelo IFN- $\gamma$ , em culturas tumorais irradiadas, intensifica a morte celular, inibindo a angiogênese. Mas o receptor CXCR3, se expresso em células tumorais, induz à metástase, e se expresso em células imunes, promove respostas antitumorais	102
	Pacientes com mesotelioma hiperexpressam, no soro, IP10/CXCL10 e Rantes/CCL5 associadas à gravidade	30
Pacientes com hepatocarcinoma submetidos a transplante hepático as MDSCs recrutadas para a área do fígado, pela sinalização de IP10/CXCL10/TLR4, colaboraram com a recorrência do tumor	106	

Continua

Continuação

<b>ITAC/ CXCL11</b>	<b>Interferon-<math>\gamma</math>-inducible T-cell chemoattractant (ITAC)</b>	
	A ITAC/CXCL11 é a expressão de um agrupamento de genes no cromossomo 14p22, também indutores das quimiocinas MIG/CXCL9, IP10/CXCL10, localizados próximos, e semelhante em humanos e camundongos	130
	A atividade do IFN- $\gamma$ é proporcional ao MHC I e CXCR3, com secreção de MIG/CXCL9, IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11 pelas células tumorais, endoteliais, monócitos e fibroblastos, com migração de linfócitos e inibição da angiogênese, com resposta Th1. Mas se a ITAC/CXCL11 se liga ao CXCR7, promove resposta Th2, com angiogênese e o crescimento do tumor	54
	A ITAC/CXCL11 é ligante do CXCR3, que tem duas variantes, CXCR3A e CXCR3B, com atividades protumoral e antitumoral, respectivamente	150
	Mas a ativação de outros receptores atípicos de quimiocinas, denominados ACKRs, por outros ligantes, pode ativar a actina induzindo proliferação, invasão e sobrevivência da célula	17
	Nas células MCF-7 de câncer de mama que expressam CXCR4+ e CXCR7+, mas não o CXCR3, após a ligação com ITAC/CXCL11 e CXCL12 há internalização destes receptores, com redução da apoptose e da proliferação celular	65
	Células cancerosas da mama tratadas com meio condicionado à senescência, como a irradiação, podem aumentar significativamente a proliferação e invasão, com maior expressão de ITAC/CXCL11	77
	Análise de CTC de pacientes com câncer de mama demonstrou elevação independente de RH com a IP10/CXCL10, mas dependente de MIG/CXCL9 e ITAC/CXCL11, elevadas no soro dos pacientes com tumores RH+, em comparação aos pacientes RH- e controles saudáveis	39
	Na ativação do RE $\alpha$ há promoção da secreção ITAC/CXCL11 nas células cancerosas, que irão ativar o CXCR7, induzindo a EMT	180
	Pacientes com câncer de mama em neoadjuvância a hiperexpressão de genes do complexo proteassoma/ubiquitina, e às citocinas MCP1/CCL2, IP10/CXCL10, ITAC/CXCL11, apresentaram maior resposta ao tratamento, pela indução expressiva do infiltrado inflamatório no TME	114
	ITAC/CXCL11 pode induzir a tumorigênese em algumas situações, mas é dependente da expressão de miR-1298-5p que atenua o efeito promotor desta quimiocina nas neoplasias	201
	Outro regulador negativo da ITAC/CXCL11 é o microRNA-205-3p (miR-205-3p), notadamente no câncer gástrico	119
	O miR-34a-5p, se superexpresso em macrófagos M1, reduz a secreção de IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11 em células T CD4+ e CD8+	64
	A expressão do miR-548t-5p inibe diretamente a ITAC/CXCL11 no câncer de pâncreas	52
	No câncer de pulmão o gene expressor da ITAC/CXCL11 é considerado gene “quente”, indutor de maior infiltrado inflamatório, mas há participação de mais de uma dezena de outros genes	141
	Há hiperexpressão da ITAC/CXCL11 em tecidos de hepatocarcinoma	104
	Há hiperexpressão da ITAC/CXCL11 no câncer de células renais metastáticos, sendo significativamente associado a menor sobrevida global	41
	No câncer de bexiga a alta expressão dos genes de quimiocinas induzidas por IFN, como a MIG/CXCL9, IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11, impactou em maior resposta à terapia com inibidores do <i>checkpoint</i> imunológico	27
	Há maior expressão de ITAC/CXCL11 no adenocarcinoma de cólon e de reto, mas associada a um melhor prognóstico na neoplasia do cólon, mas não do reto	19
	Em estudo com células de câncer de cólon a secreção de ITAC/CXCL11 induziu a expressão de TGF- $\beta$ 1 em TAMs, com promoção das metástases deste tumor, e provável pior prognóstico	110
	Em análise de tecido e linhas celulares de câncer colorretal a repressão da ITAC/CXCL11 inibiu significativamente a migração destas células tumorais dependentes de N-caderina	50
	Estudo de células de tumores colorretais em camundongos demonstrou que a função angiogênica tumoral dependente do CXCR3 foi completamente inibida pelo bloqueio simultâneo de ITAC/CXCL11 e de CXCL12, mas o bloqueio individual foi ineficaz	154
	Há hiperexpressão da ITAC/CXCL11 no câncer anaplásico de tireoide	99
	Há hiperexpressão da ITAC/CXCL11 nos carcinomas de cabeça e pescoço	91
	Em pacientes com melanoma a expressão de mRNA de 32 quimiocinas nos linfonodos regionais mostrou que a alta expressão da maioria, incluindo a ITAC/CXCL11, está relacionada ao prognóstico favorável, com maior expressão de células T CD8+ e macrófagos M1. E apenas a alta expressão de CXCL17 foi um indicador de mau prognóstico	190
	Em pacientes com câncer seroso de alto grau de ovário a hiperexpressão de ITAC/CXCL11 e de STAT4 correlacionou com pior sobrevida global	200

Continua

<b>ITAC/ CXCL11</b>	No câncer seroso de alto grau de ovário o pior prognóstico pela hiperexpressão de ITAC/CXCL11 é dependente da ativação do eixo CXCR7/ITAC/CXCL11, sob controle do RE $\alpha$ , induzindo a EMT e o comportamento metastático das células tumorais	11
	O trastuzumab deruxtecan, conjugado de anticorpo anti-HER2, associado ao deruxtecan, inibidor da topoisomerase I, suprime o crescimento do tumor, aumenta a expressão de HLA classe I e dos mRNAs de quimiocinas MIG/CXCL9, IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11, quimioatraentes de células T CD8+, no câncer gástrico humano HER2+	137
	O docetaxol regula positivamente a expressão de ITAC/CXCL11 no TME do câncer de pulmão, com aumento o recrutamento de células T CD8+, posteriormente	48
	A irradiação pode aumentar a expressão local de citocinas, incluindo IFN- $\gamma$ e suas quimiocinas induzíveis, como MIG/CXCL9, IP10/CXCL10, ITAC/CXCL11 ou CXCL16, intensificando a migração de linfócitos	66

*Legenda:*

AFs = fibroblastos associados a câncer; AKT = quinase serina/treonina; CAFs = fibroblastos associados a câncer; CBF $\beta$  = fator de transcrição; CCL = chemokine ligand; CCR = receptor de quimiocina da família CC; CL = chemokine ligand; CTC = célula tumoral circulante; CXCL = CXC chemokine ligand; CXCR = receptor de quimiocina da família CXC; DARC = Duffy antigen receptor for chemokines; DNA = ácido desoxirribonucleico; EBV = vírus Epstein-Barr; EGF = fator de crescimento epidérmico; EGFR = receptor do fator de crescimento epidérmico; EMT = transição epitélio-mesênquima; ENA78 = epitelial-derived neutrophil-activating protein 78; EOTAXINA = eosinophil chemotactic proteins; ERK = quinase controlada pela sinalização extracelular; GM-CSF = fator de crescimento de colônia de granulócitos e monócitos; GroAlpha = growth-regulated oncogene-alpha; HCT116 = linhagem de tumor de cólon; HCV = vírus da hepatite C; HeLa = célula imortalizada do câncer de colo de útero; HER = receptor epidermal humano; HLA = antígeno leucocitário humano; HIC = gene supressor de tumor; HuR = antígeno humano R; IDO = indolamina; IFN = interferon; IGF = fator de crescimento insulina like; IH = imuno-histoquímico; IL = interleucina; IP = interferon gamma-induced protein; ITAC = interferon- $\gamma$ -inducible T-cell chemoattractant; MAPK = via quinase MAP; MCF-7 = linhagem de célula de câncer de mama da Michigan Cancer Foundation-7; MCP = monocyte chemoattractant protein; MDSC = célula supressora derivada de mielóide; MHC = complexo de histocompatibilidade principal; MIG = monokine induced by interferon -G; MMP9 = metaloproteinase 9; MIP1 = macrofage inflammatory 1 protein; miR = microRNA; MSCs = células estromais mesenquimais; NF- $\kappa$ B = fator nuclear kappa B; NK = célula killer; PARPs = poli(ADP-ribose) polimerase; PD1 = receptor da morte celular programada 1; PD-L = ligante do receptor a morte programada; PMN = polimorfonucleares; Rantes = regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted; Ras-GTPase = via de sinalização; RE $\alpha$  = Receptor de estrogênio alfa; RE = receptor de estrogênio; RH = receptor hormonal; RIPOR = fator de transcrição; RUNX = fator de transcrição; SNP = polimorfismo de nucleotídeo único; STAT = proto-oncogene; TAMs = matriz de amostras teciduais; T CD = células T CD; TARC = thymus- and activation-regulated chemokine; TGF = fator de transformação de crescimento; Th = célula T helper; TIL = linfócito infiltrante tumoral; TME = microambiente tumoral; TIMP-1 = inibidor de metaloproteinase; TLR = toll like receptor; TME = microambiente tumoral; TN = triplo negativo; TNF = fator de necrose tumoral; TP53 = gene supressor de tumor; Treg = célula T reguladora; VEGF = fator de crescimento endotelial vascular.

### Referencia bibliográfica da tabela complementar 1

1. ABANGAN Jr, R. S. et al. MCP1 directs trafficking of hematopoietic stem cell-derived fibroblast precursors in solid tumor. **Am. J. Pathol.**, Philadelphia (United States), v. 176, n. 4, p. 1914-1926, Apr. 2010. doi: 10.2353/ajpath.2010.080839.
2. ACHARYYA, S. et al. A CXCL1 paracrine network links cancer chemoresistance and metastasis. **Cell**, Cambridge (United States), v. 150, n. 1, p. 165-178, July 2012. doi: 10.1016/j.cell.2012.04.042.
3. ADLER, E. P. et al. A dual role for tumor-derived chemokine RANTES (CCL5). **Immunol. Lett.**, Amsterdam (Netherlands), v. 90, n. 2-3, p. 187-194, Dec. 2003. doi: 10.1016/j.imlet.2003.09.013.
4. ALASSAF, E.; MUELLER, A. The role of PKC in CXCL8 and CXCL10 directed prostate, breast and leukemic cancer cell migration. **Eur. J. Pharmacol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 886, p. 173453, Nov. 2020. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173453.
5. AL-HAIDARI, A. A. et al. CCR4 mediates CCL17 (TARC)-induced migration of human colon cancer cells via RhoA/Rho-kinase signaling. **Int. J. Colorectal Dis.**, Heidelberg (Germany), v. 28, n. 11, p. 1479-1487, Nov. 2013. doi: 10.1007/s00384-013-1712-y.
6. ALLEN, F. et al. CCL3 augments tumor rejection and enhances CD8<sup>+</sup> T cell infiltration through NK and CD103<sup>+</sup> dendritic cell recruitment via IFN $\gamma$ . **Oncoimmunology**, Austin (United States), v. 7, n. 3, p. e1393598, Nov. 2017. doi: 10.1080/2162402X.2017.1393598.
7. ARIYARATHNA, H. et al. Chemokine gene expression influences metastasis and survival time of female dogs with mammary carcinoma. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 227, p. 110075, Sept. 2020. doi: 10.1016/j.vetimm.2020.110075.
8. AZENSHTEIN, E. et al. The angiogenic factors CXCL8 and VEGF in breast cancer: regulation by an array of pro-malignancy factors. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 217, n. 1, p. 73-86, Jan. 2005. doi: 10.1016/j.canlet.2004.05.024.
9. BARAKAT, R. H. et al. Impact of CCL4 knockout using CRISPR Cas-9 technology on colorectal tumour progression. **Ann. Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 30, suppl. 5, p. v242, Oct. 2019. doi: 10.1093/annonc/mdz246.120.
10. BEKAERT, S. et al. Asthma-related inflammation promotes lung metastasis of breast cancer cells through CCL11-CCR3 pathway. **Respir. Res.**, London (England), v. 22, n. 1, p. 61, Feb. 2021. doi: 10.1186/s12931-021-01652-9.
11. BENHADJEBBA, S. et al. Feedback control of the CXCR7/CXCL11 chemokine axis by estrogen receptor  $\alpha$  in ovarian cancer. **Mol. Oncol.**, Hoboken (United States), v. 12, n. 10, p. 1689-1705, Oct. 2018. Doi: 10.1002/1878-0261.12362.
12. BENKHEIL, M. et al. CCL20, a direct-acting pro-angiogenic chemokine induced by hepatitis C virus (HCV): potential role in HCV-related liver cancer. **Exp. Cell Res.**, New York (United States), v. 372, n. 2, p. 168-177, Nov. 2018. doi: 10.1016/j.yexcr.2018.09.023.
13. BODELON, C. et al. Circulating levels of immune and inflammatory markers and long versus short survival in early-stage lung cancer. **Ann. Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 24, n. 8, p. 2073-2079, Aug. 2013. doi: 10.1093/annonc/mdt175.
14. BONAPACE, L. et al. Cessation of CCL2 inhibition accelerates breast cancer metastasis by promoting angiogenesis. **Nature**, London (England), v. 515, n. 7525, p. 130-133, Nov. 2014. doi: 10.1038/nature13862.
15. BORCZUK, A. C. et al. Lung adenocarcinoma invasion in TGF $\beta$ RII-deficient cells is mediated by CCL5/Rantes. **Oncogene**, Basingstoke (England), v. 27, n. 4, p. 557-564, Jan. 2008. doi: 10.1038/sj.onc.1210662.
16. BOUCHET, M. et al. ER $\alpha$  expression in bone metastases leads to an exacerbated antitumor immune response. **Cancer Res.**, Chicago (United States), v. 80, n. 13, p. 2914-2926, July 2020. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-3584.
17. BOYÉ, K. et al. The role of CXCR3/LRP1 cross-talk in the invasion of primary brain tumors. **Nat. Commun.**, London (England), v. 8, n. 1, Nov. 2017. doi: 10.1038/s41467-017-01686-y.
18. BURGER, J. A. Treatment of chronic lymphocytic leukemia. **N. Engl. J. Med.**, Boston (United States), v. 383, n. 5, p. 460-473, July 2020. Doi: 10.1056/NEJMra1908213.
19. CAO, Y. et al. CXCL11 correlates with antitumor immunity and an Improved prognosis in colon cancer. **Front. Cell Dev. Biol.**, Lausanne (Switzerland), v. 9, p. 646252, Mar. 2021. doi: 10.3389/fcell.2021.646252.
20. CARRTERO, R. et al. Eosinophils orchestrate cancer rejection by normalizing tumor vessels and enhancing infiltration of CD8(+) T cells. **Nat. Immunol.**, New York (United States), v. 16, n. 6, p. 609-617, June 2015. doi: 10.1038/ni.3159.
21. CHAVEY, C. et al. Oestrogen receptor negative breast cancers exhibit high cytokine content. **Breast Cancer Res.**, London (England), v. 9, n. 1, p. R15, 2007. doi: 10.1186/bcr1648.
22. CHEN, C. et al. CXCL5 induces tumor angiogenesis via enhancing the expression of FOXD1 mediated by the AKT/NF- $\kappa$ B pathway in colorectal cancer. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 10, n. 3, p. 178, Mar. 2019. doi: 10.1038/s41419-019-1431-6.
23. CHEN, K.-H. E. et al. Prolactin enhances T regulatory cell promotion of breast cancer through the long form prolactin receptor. **Transl. Oncol.**, Ann Arbor (United States), v. 14, n. 11, p. 101195, Nov. 2021. doi: 10.1016/j.tranon.2021.101195.
24. CHEN, M. et al. Identification of a novel biomarker-CCL5 using antibody microarray for colorectal cancer. **Pathol. Res. Pract.**, Stuttgart (Germany), v. 215, n. 5, p. 1033-1037, May 2019. doi: 10.1016/j.prp.2019.02.011.
25. CHEN, W. et al. CCL20 triggered by chemotherapy hinders the therapeutic efficacy of breast cancer. **PLoS Biol.**, San Francisco (United States), v. 16, n. 7, p. e2005869, July 2018. doi: 10.1371/journal.pbio.2005869.
26. CHEN, Z.-Y. et al. LncRNA SNHG16 promotes colorectal cancer cell proliferation, migration, and epithelial-mesenchymal transition through miR-124-3p/MCP-1. **Gene Ther.**, London (England), v. 29, n. 3-4, p. 193-205, Apr. 2022. doi: 10.1038/s41434-020-0176-2.
27. CHENARD, S.; SIEMENS, D. R.; KOTI, M. The CXCR3alt-CXCL11 axis in bladder cancer: potential for prediction of neoadjuvant chemotherapy response. **Cell Mol. Immunol.**, Beijing (China), v. 18, n. 7, p. 1631-1633, July 2021. doi: 10.1038/s41423-021-00692-x.
28. CHENG, X.-S. et al. CCL20 and CXCL8 synergize to promote progression and poor survival outcome in patients with colorectal cancer by collaborative induction of the epithelial-mesenchymal transition. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 348, n. 1-2, p. 77-87, June 2014. doi: 10.1016/j.canlet.2014.03.008.
29. CHIU, J.-H. et al. MEGF11 is related to tumour recurrence in triple negative breast cancer via chemokine upregulation. **Sci. Rep.**, London (England), v. 10, n. 1, p. 8060, May 2020. doi: 10.1038/s41598-020-64950-0.
30. COMAR, M. et al. Chemokines involved in the early inflammatory response and in pro-tumoral activity in asbestos-exposed workers from an Italian coastal area with territorial clusters of pleural malignant mesothelioma. **Lung Cancer**, Amsterdam (Netherlands), v. 94, p. 61-67, Apr. 2016. doi: 10.1016/j.lungcan.2016.01.020.

31. CORNFORTH, A. N. et al. Increases in serum TARC/CCL17 levels are associated with progression-free survival in advanced melanoma patients in response to dendritic cell-based immunotherapy. **J. Clin. Immunol.**, New York (United States), v. 29, n. 5, p. 657-664, Sept. 2009. doi: 10.1007/s10875-009-9299-3.
32. Da SILVA, J. M. et al. Relevance of CCL3/CCR5 axis in oral carcinogenesis. **Oncotarget**, Albany (United States), v. 8, n. 31, p. 51024-51036, Apr. 2017. doi: 10.18632/oncotarget.16882.
33. DABKEVICIENE, D. et al. The role of interleukin-8 (CXCL8) and CXCR2 in acquired chemoresistance of human colorectal carcinoma cells HCT116. **Med. Oncol.**, New York (United States), v. 32, n. 12, p. 258, Dec. 2015. doi: 10.1007/s12032-015-0703-y.
34. De SILVA, P. et al. FOXP1 negatively regulates tumor infiltrating lymphocyte migration in human breast cancer. **EBioMedicine**, Amsterdam (Netherlands), v. 39, p. 226-238, Jan. 2019. doi: 10.1016/j.ebiom.2018.11.066.
35. DENKERT, C. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy with or without carboplatin in human epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative primary breast cancers. **J. Clin. Oncol.**, Alexandria (United States), v. 33, n.9, p. 983-991, Mar. 2015. doi: 10.1200/JCO.2014.58.1967.
36. DIJKSTRA, K. K. et al. Genomics- and transcriptomics-based patient selection for cancer treatment with immune checkpoint inhibitors: a review. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 2, n. 11, p. 1490-1495, Nov. 2016. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.2214.
37. DORON, H. et al. Inflammatory activation of astrocytes facilitates melanoma brain tropism via the CXCL10-CXCR3 signaling axis. **Cell Rep.**, Cambridge (United States), v. 28, n. 7, p. 1785-1798.e6, Aug. 2019. doi: 10.1016/j.celrep.2019.07.033.
38. DWIVEDI, A.; KIELY, P. A.; HOEY, D. A. Mechanically stimulated osteocytes promote the proliferation and migration of breast cancer cells via a potential CXCL1/2 mechanism. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, San Diego (United States), v. 534, p. 14-20, Jan. 2021. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.12.016.
39. EJAIEDI, A. et al. Hormone receptor-independent CXCL10 production is associated with the regulation of cellular factors linked to breast cancer progression and metastasis. **Exp. Mol. Pathol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 99, n. 1, p. 163-172, Aug. 2015. doi: 10.1016/j.yexmp.2015.06.002.
40. EREZ, N. et al. Cancer-associated fibroblasts are activated in incipient neoplasia to orchestrate tumor-promoting inflammation in an NF-kappaB-dependent manner. **Cancer Cell**, Cambridge (United States), v. 17, n. 2, p. 135-147, Feb. 2010. doi: 10.1016/j.ccr.2009.12.041.
41. ESTEBAN, E. et al. Circulating levels of the interferon-gamma-regulated chemokines CXCL10/CXCL11, IL-6 and HGF predict outcome in metastatic renal cell carcinoma patients treated with antiangiogenic therapy. **Cancers**, Basel (Switzerland), v. 13, n. 11, p. 2849, June 2021. doi: 10.3390/cancers13112849.
42. FARMAKI, E. et al. Induction of the MCP chemokine cluster cascade in the periphery by cancer cell-derived Ccl3. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 389, p. 49-58, Mar. 2017. doi: 10.1016/j.canlet.2016.12.028.
43. FENG, X. et al. CXCL5, the upregulated chemokine in patients with uterine cervix cancer, in vivo and in vitro contributes to oncogenic potential of HeLa uterine cervix cancer cells. **Biomed. Pharmacother.**, New York (United States), v. 107, p. 1496-1504, Nov. 2018. doi: 10.1016/j.biopha.2018.08.149.
44. FILHO, O. M. et al. Association of immunophenotype with pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy for triple-negative breast cancer: a secondary analysis of the brithTNess phase 3 randomized clinical trial. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 7, n. 4, p. 603-608, Apr. 2021. doi: 10.1001/jamaoncol.2020.7310.
45. FORSTHUBER, A. et al. CXCL5 as regulator of neutrophil function in cutaneous melanoma. **J. Invest. Dermatol.**, New York (United States), v. 139, n. 1, p. 186-194, Jan. 2019. doi: 10.1016/j.jid.2018.07.006.
46. GALEZ, D. et al. The chemokine CXCL8 in carcinogenesis and drug response. **ISRN Oncol.**, Cairo (Egypt), v. 2013, p. 859154, Oct. 2013. doi: 10.1155/2013/859154.
47. GANTSEV, S. K. et al. The role of inflammatory chemokines in lymphoid neoorganogenesis in breast cancer. **Biomed. Pharmacother.**, New York (United States), v. 67, n. 5, p. 363-366, June 2013. doi: 10.1016/j.biopha.2013.03.017.
48. GAO, Q. et al. Cancer-cell-secreted CXCL11 promoted CD8<sup>+</sup> T cells infiltration through docetaxel-induced-release of HMGB1 in NSCLC. **J. Immunother. Cancer**, London (England), v. 7, n. 1, p. 42, Feb. 2019. doi: 10.1186/s40425-019-0511-6.
49. GAO, T. et al. The CCL5/CCR5 chemotactic pathway promotes perineural invasion in salivary adenoid cystic carcinoma. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia (United States), v. 76, n. 8, p. 1708-1718, Aug. 2018. doi: 10.1016/j.joms.2018.02.009.
50. GAO, Y. J. et al. Down-regulation of CXCL11 inhibits colorectal cancer cell growth and epithelial-mesenchymal transition. **Onco. Targets Ther.**, Auckland (New Zealand), v. 11, p. 7333-7343, Oct. 2018. doi: 10.2147/OTT.S167872.
51. GE, R. et al. Epigenetic modulations and lineage plasticity in advanced prostate cancer. **Ann. Oncol.**, London (England), v. 31, n. 4, p. 470-479, Apr. 2020. doi: 10.1016/j.annonc.2020.02.002.
52. Ge, W.-L., et al. The YY1/miR-548t-5p/CXCL11 signaling axis regulates cell proliferation and metastasis in human pancreatic cancer. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 11, n. 4, p. 294, Apr. 2020. doi:10.1038/s41419-020-2475-3.
53. GEISMANN, C. et al. Role of CCL20 mediated immune cell recruitment in NF-kB mediated TRAIL resistance of pancreatic cancer. **Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.**, Amsterdam (Netherlands), v. 1864, n. 5, p. 782-796, May 2017. doi: 10.1016/j.bbamcr.2017.02.005.
54. GOCHER, A. M.; WORKMAN, C. J.; VIGNALI, D. A. A. Interferon-gamma: teammate or opponent in the tumour microenvironment? **Nat. Rev. Immunol.**, London (England), v. 22, n. 3, p. 158-172, Mar. 2022. doi: 10.1038/s41577-021-00566-3.
55. GRANOT, Z. et al. Tumor entrained neutrophils inhibit seeding in the premetastatic lung. **Cancer Cell**, Cambridge (United States), v. 20, n. 3, p. 300-314, Sept. 2011. doi: 10.1016/j.ccr.2011.08.012.
56. GRISARU-TAL, S. et al. A new dawn for eosinophils in the tumour microenvironment. **Nat. Rev. Cancer**, London (United States), v. 20, n. 10, p. 594-607, Oct. 2020. doi: 10.1038/s41568-020-0283-9.
57. GRISS, J. et al. B cells sustain inflammation and predict response to immune checkpoint blockade in human melanoma. **Nat. Commun.**, London (England), v. 10, n. 1, p. 4186, Sept. 2019. doi: 10.1038/s41467-019-12160-2.
58. GUAN, Z. et al. Androgen receptor (AR) signaling promotes RCC progression via increased endothelial cell proliferation and recruitment by modulating AKT→NF→κB→CXCL5 signaling. **Sci. Rep.**, London (England), v. 6, p. 37085, Nov. 2016. doi: 10.1038/srep37085.
59. HADADI, E. et al. Chronic circadian disruption modulates breast cancer stemness and immune microenvironment to drive metastasis in mice. **Nat. Commun.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 3193, June 2020. doi: 10.1038/s41467-020-16890-6.

60. HAN, G. et al. CrkL mediates CCL20/CCR6-induced EMT in gastric cancer. **Cytokine**, Oxford (England), v. 76, n. 2, p. 163-169, Dec. 2015. doi: 10.1016/j.cyto.2015.05.009.
61. HAN, R. et al. Estrogen promotes progression of hormone-dependent breast cancer through CCL2-CCR2 axis by upregulation of twist via PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B signaling. **Sci. Rep.**, London (England), v. 8, n. 1, p. 9575, June 2018. doi: 10.1038/s41598-018-27810-6.
62. HAN, X. et al. Role of CXCR3 signaling in response to anti-PD-1 therapy. **EBioMedicine**, Amsterdam (Netherlands), v. 48, p. 169-177, Oct. 2019. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.08.067.
63. HAPKE, R. Y.; HAAKE, S. M. Hypoxia-induced epithelial to mesenchymal transition in cancer. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 487, p. 10-20, Sept. 2020. doi: 10.1016/j.canlet.2020.05.012.
64. HART, M. et al. Wrinkle in the plan: miR-34a-5p impacts chemokine signaling by modulating CXCL10/CXCL11/CXCR3-axis in CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> T cells, and M1 macrophages. **J. Immunother. Cancer**, London (England), v. 8, n. 2, p. e001617, Nov. 2020. doi: 10.1136/jitc-2020-001617.
65. HATTERMANN, K. et al. Effects of the chemokine CXCL12 and combined internalization of its receptors CXCR4 and CXCR7 in human MCF-7 breast cancer cells. **Cell Tissue Res.**, Berlin (Germany), v. 357, n. 1, p. 253-266, July 2014. doi: 10.1007/s00441-014-1823-y.
66. HAUTH, F. et al. Radiotherapy to enhance chimeric antigen receptor T-cell therapeutic efficacy in solid tumors: a narrative review. **JAMA Oncol.**, Chicago (United States), v. 7, n. 7, p. 1051-1059, July 2021. doi: 10.1001/jamaoncol.2021.0168.
67. HIGUCHI, T. et al. Epstein-Barr virus-positive pyothorax-associated lymphoma expresses CCL17 and CCL22 chemokines that attract CCR4-expressing regulatory T cells. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 453, p. 184-192, July 2019. doi: 10.1016/j.canlet.2019.03.053.
68. HILBORN, E. et al. C-X-C ligand 10 and C-X-C receptor 3 status can predict tamoxifen treatment response in breast cancer patients. **Breast Cancer Res. Treat.**, The Hague (Netherlands), v. 145, n. 1, p. 73-82, May 2014. doi: 10.1007/s10549-014-2933-7.
69. HOLLANDE, C. et al. Inhibition of the dipeptidyl peptidase DPP4 (CD26) reveals IL-33-dependent eosinophil-mediated control of tumor growth. **Nat. Immunol.**, New York (United States), v. 20, n. 3, p. 257-264, Mar. 2019. doi: 10.1038/s41590-019-0321-5.
70. HOLLMÉN, M. et al. Characterization of macrophage: cancer cell crosstalk in estrogen receptor positive and triple-negative breast cancer. **Sci. Rep.**, London (England), v. 5, p. 9188, Mar. 2015. doi: 10.1038/srep09188.
71. HSI, E. D. et al. Serum levels of TARC, MDC, IL-10, and soluble CD163 in Hodgkin lymphoma: a SWOG S0816 correlative study. **Blood**, New York (United States), v. 133, n. 16, p. 1762-1765, Apr. 2019. doi: 10.1182/blood-2018-08-870915.
72. HSU, Y.-L. et al. Breast tumor-associated osteoblast-derived CXCL5 increases cancer progression by ERK/MSK1/Elk-1/snail signaling pathway. **Oncogene**, Basingstoke (England), v. 32, n. 37, p. 4436-4447, Sept. 2013. doi: 10.1038/ncr.2012.444.
73. HU, B. et al. Prognostic significance of CXCL5 expression in cancer patients: a meta-analysis. **Cancer Cell Int.**, London (England), v. 18, p. 68, May 2018. doi: 10.1186/s12935-018-0562-7.
74. HU, G.-N. et al. Correlation between CCL4 gene polymorphisms and clinical aspects of breast cancer. **Int. J. Med. Sci.**, (Australia), v. 15, n. 11, p. 1179-1186, July 2018. doi: 10.7150/ijms.26771.
75. HUANG, B. et al. Osteoblasts secrete CXCL9 to regulate angiogenesis in bone. **Nat. Commun.**, London (England), v. 7, p. 13885, Dec. 2016. doi: 10.1038/ncomms13885.
76. HUANG, R. et al. CCL5 derived from tumor-associated macrophages promotes prostate cancer stem cells and metastasis via activating  $\beta$ -catenin/STAT3 signaling. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 11, n. 4, p. 234, Apr. 2020. doi: 10.1038/s41419-020-2435-y.
77. HWANG, H. J. et al. Endothelial cells under therapy-induce senescence secrete CXCL11, which increases aggressiveness of breast cancer cells. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 490, p. 100-110, Oct. 2020. doi: 10.1016/j.canlet.2020.06.019.
78. IBRAHIM, S. A. et al. Syndecan-1 is a novel molecular marker for triple negative inflammatory breast cancer and modulates the cancer stem cell phenotype via the IL-6/STAT3, Notch and EGFR signaling pathways. **Mol. Cancer**, London (England), v. 16, n. 1, p. 57, Mar. 2017. doi: 10.1186/s12943-017-0621-z.
79. ISHIDA, Y. et al. Mesenchymal stem cells up-regulate the invasive potential of prostate cancer cells via the eotaxin-3/CCR3 axis. **Pathol. Res. Pract.**, Stuttgart (Germany), v. 214, n. 9, p. 1297-1302, Sept. 2018. doi: 10.1016/j.prp.2018.06.012.
80. JIA, D. et al. An autocrine inflammatory forward-feedback loop after chemotherapy withdrawal facilitates the repopulation of drug-resistant breast cancer cells. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 8, n. 7, p. e2932, July 2017. doi: 10.1038/cddis.2017.319.
81. JIN, P. et al. Interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  polarize bone marrow stromal cells uniformly to a Th1 phenotype. **Sci. Rep.**, London (England), v. 6, p. 26345, May 2016. doi: 10.1038/srep26345.
82. JIN, W. J. et al. NF- $\kappa$ B signaling regulates cell-autonomous regulation of CXCL10 in breast cancer 4T1 cells. **Exp. Mol. Med.**, New York (United States), v. 49, n. 2, p. e295, Feb. 2017. doi: 10.1038/emmm.2016.148.
83. KADOMOTO, S.; IZUMI, K.; MIZOKAMI, A. The CCL20-CCR6 axis in cancer progression. **Int. J. Mol. Sci.**, Basel (Switzerland), v. 21, n. 15, p. 5186, July 2020. doi: 10.3390/ijms21155186.
84. KARNOUB, A. E. et al. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. **Nature**, London (England), v. 449, n. 7162, p. 557-563, Oct. 2007. doi: 10.1038/nature06188.
85. KEKLIKOGLOU, I. et al. Chemotherapy elicits pro-metastatic extracellular vesicles in breast cancer models. **Nat. Cell. Biol.**, London (England), v. 21, n. 2, p. 190-202, Feb. 2019. doi: 10.1038/s41556-018-0256-3.
86. KIM, S. et al. WNT5A augments cell invasiveness by inducing CXCL8 in HER2-positive breast cancer cells. **Cytokine**, Oxford (England), v. 135, p. 155213, Nov. 2020. doi: 10.1016/j.cyto.2020.155213.
87. KODAMA, T. et al. CCL3-CCR5 axis contributes to progression of esophageal squamous cell carcinoma by promoting cell migration and invasion via Akt and ERK pathways. **Lab. Invest.**, New York (United States), v. 100, n. 9, p. 1140-1157, Sept. 2020. doi: 10.1038/s41374-020-0441-4.
88. KOVACOVICOVA, K.; VINVIGUERRA, M. Inhibition of dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) activates immune cells chemotaxis in hepatocellular carcinoma. **Oncology Signaling**, Amsterdam (Netherlands), v. 2, p. 1-3, Dec. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.onsig.2019.08.001>.

89. KOWALCZUK, O. et al. CXCL5 as a potential novel prognostic factor in early stage non-small cell lung cancer: results of a study of expression levels of 23 genes. **Tumour Biol.**, Tokyo (Japan), v. 35, n. 5, p. 4619-4628, May 2014. doi: 10.1007/s13277-014-1605-x.
90. KRANJIC, M. K. et al. Cytokine CCL5 and receptor CCR5 axis in glioblastoma multiforme. **Radiol. Oncol.**, Ljubljana (Poland), v. 53, n. 4, p. 397-406, Nov. 2019. doi: 10.2478/raon-2019-0057.
91. KUMARAVEL, S. et al. CXCL11-CXCR3 axis mediates tumor lymphatic cross talk and inflammation-induced tumor, promoting pathways in head and neck cancers. **Am. J. Pathol.**, New York (United States), v. 190, n. 4, p. 900-915, Apr. 2020. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.12.004.
92. LANDOLFO, C. et al. Assessment of protein biomarkers for preoperative differential diagnosis between benign and malignant ovarian tumors. **Gynecol. Oncol.**, New York (United States), v. 159, n. 3, p. 811-819, Dec. 2020. doi: 10.1016/j.ygyno.2020.09.025.
93. LAVENDER, N. et al. The Yin/Yan of CCL2: a minor role in neutrophil anti-tumor activity in vitro but a major role on the outgrowth of metastatic breast cancer lesions in the lung in vivo. **BMC Cancer**, London (England), v. 17, n. 1, p. 88, Jan. 2017. doi: 10.1186/s12885-017-3074-2.
94. LEE, S. et al. Tumor-associated macrophages secrete CCL2 and induce the invasive phenotype of human breast epithelial cells through upregulation of ERO1- $\alpha$  and MMP-9. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 437, p. 25-34, Nov. 2018. doi: 10.1016/j.canlet.2018.08.025.
95. LEE, S. K. et al. Human antigen R-regulated CCL20 contributes to osteolytic breast cancer bone metastasis. **Sci. Rep.**, London (England), v. 7, n. 1, p. 9610, Aug. 2017. doi: 10.1038/s41598-017-09040-4.
96. LI, S. et al. Mendelian randomization analyses of genetically predicted circulating levels of cytokines with risk of breast cancer. **NPJ Precis. Oncol.**, London (England), v. 4, p. 25, Sept. 2020. doi: 10.1038/s41698-020-00131-6.
97. LI, Y. et al. CXCL8 is associated with the recurrence of patients with acute myeloid leukemia and cell proliferation in leukemia cell lines. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, San Diego (United States), v. 499, n. 3, p. 524-530, May 2018. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.03.181.
98. LI, Y. et al. EN2 as an oncogene promotes tumor progression via regulating CCL20 in colorectal cancer. **Cell. Death Dis.**, London (England), v. 11, n. 7, p. 604, July 2020. doi: 10.1038/s41419-020-02804-3.
99. LIANG, J. et al. The role of anlotinib-mediated EGFR blockade in a positive feedback loop of CXCL11-EGF-EGFR signalling in anaplastic thyroid cancer angiogenesis. **Br. J. Cancer**, London (England), v. 125, n. 3, p. 390-401, Aug. 2021. doi: 10.1038/s41416-021-01340-x.
100. LIM, J.-B.; CHUNG, H. W. Serum ENA78/CXCL5, SDF-1/CXCL12, and their combinations as potential biomarkers for prediction of the presence and distant metastasis of primary gastric cancer. **Cytokine**, Oxford (England), v. 73, n. 1, p. 16-22, May 2015. doi: 10.1016/j.cyto.2015.01.010.
101. LIN, S. et al. Myeloid-derived suppressor cells promote lung cancer metastasis by CCL11 to activate ERK and AKT signaling and induce epithelial-mesenchymal transition in tumor cells. **Oncogene**, Basingstoke (England), v. 40, n. 8, p. 1476-1489, Feb. 2021. doi: 10.1038/s41388-020-01605-4.
102. LIN, Y. et al. IFN $\gamma$ -inducible CXCL10/CXCR3 axis alters the sensitivity of HEP-2 cells to ionizing radiation. **Exp. Cell Res.**, New York (United States), v. 398, n. 1, p. 112382, Jan. 2021. doi: 10.1016/j.yexcr.2020.112382.
103. LIN, Y. et al. Intestinal epithelium-derived BATF3 promotes colitis-associated colon cancer through facilitating CXCL5-mediated neutrophils recruitment. **Mucosal Immunol.**, New York (United States), v. 14, n. 1, p. 187-198, Jan. 2021b. doi: 10.1038/s41385-020-0297-3.
104. LIU, G. et al. Cancer-associated fibroblast-derived CXCL11 modulates hepatocellular carcinoma cell migration and tumor metastasis through the circUBAP2/miR-4756/IFIT1/3 axis. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 12, n. 3, p. 260, Mar. 2021. doi: 10.1038/s41419-021-03545-7.
105. LIU, G. et al. ROR- $\alpha$ -1 inhibits the proliferation, invasion, and migration of hepatocellular carcinoma MHCC97H via downregulation of chemokine CXCL5. **Cytokine**, Oxford (England), v. 129, p. 155004, May 2020. doi: 10.1016/j.cyto.2020.155004.
106. LIU, H. et al. Monocytic MDSC mobilization promotes tumor recurrence after liver transplantation via CXCL10/TLR4/MMP14 signaling. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 12, n. 5, p. 489, May 2021. doi: 10.1038/s41419-021-03788-4.
107. LIU, J. et al. The IRENA lncRNA converts chemotherapy-polarized tumor-suppressing macrophages to tumor-promoting phenotypes in breast cancer. **Nat. Cancer**, London (England), v. 2, n. 4, p. 457-473, Apr. 2021. doi: 10.1038/s43018-021-00196-7.
108. LIU, K. et al. Structural basis of CXC chemokine receptor 2 activation and signalling. **Nature**, London (England), v. 585, n. 7823, p. 135-140, Sept. 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2492-5.
109. LIU, L. et al. Multiple myeloma hinders erythropoiesis and causes anaemia owing to high levels of CCL3 in the bone marrow microenvironment. **Sci. Rep.**, London (England), v. 10, n. 1, p. 20508, Nov. 2020. doi: 10.1038/s41598-020-77450-y.
110. LIU, M. et al. Colon cancer cells secrete CXCL11 via RBP-Jk to facilitate tumour-associated macrophage-induced cancer metastasis. **J. Cell Mol. Med.**, Bucharest (Romania), v. 25, n. 22, p. 10575-10590, Nov. 2021. doi: 10.1111/jcmm.16989.
111. LIU, Q. et al. DACH1 antagonizes CXCL8 to repress tumorigenesis of lung adenocarcinoma and improve prognosis. **J. Hematol. Oncol.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 53, Apr. 2018. doi: 10.1186/s13045-018-0597-1.
112. LIU, Q. et al. The CXCL8-CXCR1/2 pathways in cancer. **Cytokine Growth Factor Rev.**, Oxford (England), v. 31, p. 61-71, Oct. 2016. doi: 10.1016/j.cytogfr.2016.08.002.
113. LIU, W. et al. Cisplatin-stimulated macrophages promote ovarian cancer migration via the CCL20-CCR6 axis. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 472, p. 59-69, Mar. 2020. doi: 10.1016/j.canlet.2019.12.024.
114. LIU, X. et al. Digital gene expression profiling analysis and its application in the identification of genes associated with improved response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. **World J. Surg. Oncol.**, London (England), v. 16, n. 1, p. 82, Apr. 2018. doi: 10.1186/s12957-018-1380-z.
115. LIU, Y. et al. Down-regulation of miR-29b in carcinoma associated fibroblasts promotes cell growth and metastasis of breast cancer. **Oncotarget**, Albany (United States), v. 8, n. 24, p. 39559-39570, June 2017. doi: 10.18632/oncotarget.17136.
116. LUO, A. et al. Myeloid-derived suppressor cells recruited by chemokine (C-C motif) ligand 3 promote the progression of breast cancer via phosphoinositide 3-kinase-protein kinase B-mammalian target of rapamycin signaling. **J. Breast Cancer**, Seoul (Korea South), v. 23, n. 2, p. 141-161, Apr. 2020. doi: 10.4048/jbc.2020.23.e26.



117. MA, K. et al. Th17 cells regulate the production of CXCL1 in breast cancer. **Int. Immunopharmacol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 56, p. 320-329, Mar. 2018. doi: 10.1016/j.intimp.2018.01.026.
118. MA, R. et al. Metformin and cancer immunity. **Acta Pharmacol. Sin.**, New York (United States), v. 41, n. 11, p. 1403-1409. Nov. 2020. doi: 10.1038/s41401-020-00508-0.
119. MA, X. et al. Oncosuppressive role of MicroRNA-205-3p in gastric cancer through inhibition of proliferation and induction of senescence: oncosuppressive role of MicroRNA-205 in gastric cancer. **Transl. Oncol.**, Ann Arbor (United States), v. 14, n. 11, p. 101199, Nov. 2021. doi: 10.1016/j.tranon.2021.101199.
120. MACÍAS, M. et al. Characterization of the perioperative changes of exosomal immune-related cytokines induced by prostatectomy in early-stage prostate cancer patients. **Cytokine**, Oxford (England), v. 141, p. 155471, May 2021. doi: 10.1016/j.cyto.2021.155471.
121. MANDAL, P. K. et al. CCL2 conditionally determines CCL22-dependent Th2-accumulation during TGF- $\beta$ -induced breast cancer progression. **Immunobiology**, Stuttgart (Netherlands), v. 223, n. 2, p. 151-161, Feb. 2018. doi: 10.1016/j.imbio.2017.10.031.
122. MAÑES, S. et al. CCR5 expression influences the progression of human breast cancer in a p53-dependent manner. **J. Exp. Med.**, New York (United States), v. 198, n. 9, p. 1381-1389, Nov. 2003. doi: 10.1084/jem.20030580.
123. MAO, Z. et al. CXCL5 promotes gastric cancer metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition and activating neutrophils. **Oncogenesis**, New York (United States), v. 9, n. 7, p. 63. July 2020. doi: 10.1038/s41389-020-00249-z.
124. MARSIGLIANTE, S.; VETRUGNO, C.; MUSCELLA, A. CCL20 induces migration and proliferation on breast epithelial cells. **J. Cell. Physiol.**, Philadelphia (United States), v. 228, n. 9, p. 1873-1883, Sept. 2013. doi: 10.1002/jcp.24349.
125. MARSIGLIANTE, S.; VETRUGNO, C.; MUSCELLA, A. Paracrine CCL20 loop induces epithelial-mesenchymal transition in breast epithelial cells. **Mol. Carcinog.**, Hoboken (United States), v. 55, n. 7, p. 1175-1186, July 2016. doi: 10.1002/mc.22360.
126. MARTIN-GARCIA, D. et al. Tumor-derived CCL20 affects B16 melanoma growth in mice. **J. Dermatol. Sci.**, Amsterdam (Netherlands), v. 97, n. 1, p. 57-65, Jan. 2020. doi: 10.1016/j.jdermsci.2019.12.005.
127. McMELLEN, M. E. et al. Epidermal growth factor receptor signaling modulates chemokine (CXC) ligand 5 expression and is associated with villus angiogenesis after small bowel resection. **Surgery**, St Louis (United States), v. 148, n. 2, p. 364-370, Aug. 2010. doi: 10.1016/j.surg.2010.03.020.
128. MEI, J. et al. Construction of an immune-related gene signature for prediction of prognosis in patients with cervical cancer. **Int. Immunopharmacol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 88, p. 106882, Nov. 2020. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106882.
129. MIKUCKI, M. E. et al. Non-redundant requirement for CXCR3 signalling during tumoricidal T-cell trafficking across tumour vascular checkpoints. **Nat. Commun.**, London (England), v. 6, p. 7458, June 2015. doi: 10.1038/ncomms8458.
130. MITSUHASHI, N. et al. Rat chemokine CXCL11: structure, tissue distribution, function and expression in cardiac transplantation models. **Mol. Cell Biochem.**, The Hague (Netherlands), v. 296, n. 1-2, p. 1-9, Feb. 2007. doi: 10.1007/s11010-005-9010-9.
131. MIYAKE, M. et al. Chemokine (C-X-C) ligand 1 (CXCL1) protein expression is increased in aggressive bladder cancers. **BMC Cancer**, London (England), v. 13, p. 322, July 2013b. doi: 10.1186/1471-2407-13-322.
132. MIYAKE, M. et al. Expression of CXCL1 in human endothelial cells induces angiogenesis through the CXCR2 receptor and the ERK1/2 and EGF pathways. **Lab. Invest.**, New York (United States), v. 93, n. 7, p. 768-778, July 2013a. doi: 10.1038/labinvest.2013.71.
133. MODI, W. S. et al. Genetic variation in the CCL18-CCL3-CCL4 chemokine gene cluster influences HIV type 1 transmission and AIDS disease progression. **Am. J. Hum. Genet.**, Baltimore (United States), v. 79, n. 1, p. 120-128, July 2006. doi: 10.1086/505331.
134. MOHAMMED, R. H. et al. Estrogen and progesterone receptors in human breast cancer. Correlation with histologic subtype and degree of differentiation. **Cancer**, Hoboken (United States), v. 58, n. 5, p. 1076-1081, Sept. 1986. doi: 10.1002/1097-0142(19860901)58:5<1076::aid-cnrc2820580516>3.0.co;2-m.
135. NAGARSHETH, N.; WICHA, M. S.; ZOU, W. Chemokines in the cancer microenvironment and their relevance in cancer immunotherapy. **Nat. Rev. Immunol.**, London (England), v. 17, n. 9, p. 559-572, Sept. 2017. doi: 10.1038/nri.2017.49.
136. NAITO, Y. et al. Cancer extracellular vesicles contribute to stromal heterogeneity by inducing chemokines in cancer-associated fibroblasts. **Oncogene**, Basingstoke (England), v. 38, n. 28, p. 5566-5579, July 2019. doi: 10.1038/s41388-019-0832-4.
137. NAKAJIMA, S. et al. The effects of T-DXd on the expression of HLA class I and chemokines CXCL9/10/11 in HER2-overexpressing gastric cancer cells. **Sci. Rep.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 16891, Aug. 2021. doi: 10.1038/s41598-021-96521-2.
138. NAZARI, A. et al. Effective treatments for bladder cancer affecting CXCL9/CXCL10/CXCL11/CXCR3 axis: a review. **Oman Med. J.**, Muscat (Oman), v. 35, n. 2, p. e103, Mar. 2020. doi: 10.5001/omj.2020.21.
139. NELSON, R. T. et al. Genomic organization of the CC chemokine mip-3 $\alpha$ /CCL20/larc/exodus/SCYA20, showing gene structure, splice variants, and chromosome localization. **Genomics**, San Diego (United States), v. 73, n. 1, p. 28-37, Apr. 2001. doi: 10.1006/geno.2001.6482.
140. NIE, G. et al. Tumor-associated macrophages-mediated CXCL8 infiltration enhances breast cancer metastasis: suppression by Danirixin. **Int. Immunopharmacol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 95, p. 107153, June 2021. doi: 10.1016/j.intimp.2020.107153.
141. NIELSEN, T. J. et al. A novel immuno-oncology algorithm measuring tumor microenvironment to predict response to immunotherapies. **Heliyon**, London (England), v. 7, n. 3, p. e06438, Mar. 2021. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e06438.
142. NISHIKAWA, G. et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote colorectal cancer progression via CCR5. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 10, n. 4, p. 264, Mar. 2019. doi: 10.1038/s41419-019-1508-2.
143. NTANASIS-STATHOPOULOS, I.; FOTIOU, D.; TERPOS, E. CCL3 signaling in the tumor microenvironment. **Adv. Exp. Med. Biol.**, New York (United States), v. 1231, p. 13-21, 2020. doi: 10.1007/978-3-030-36667-4\_2.
144. OH, D. S. et al. Reduction of interleukin 8 gene expression in reflux esophagitis and Barrett's esophagus with antireflux surgery. **Arch. Surg.**, Chicago (United States), v. 142, n. 6, p. 554-559, June 2007. doi: 10.1001/archsurg.142.6.554.
145. PARK, J. H. et al. Mismatch repair status in patients with primary operable colorectal cancer: associations with the local and systemic tumour environment. **Br. J. Cancer**, London (England), v. 114, n. 5, p. 562-570, Mar. 2016. doi: 10.1038/bjc.2016.17.

146. PEIN, M. et al. Metastasis-initiating cells induce and exploit a fibroblast niche to fuel malignant colonization of the lungs. **Nat. Commun.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 1494, Mar. 2020. doi: 10.1038/s41467-020-15188-x.
147. PENG, D. et al. Epigenetic silencing of TH1-type chemokines shapes tumour immunity and immunotherapy. **Nature**, London (England), v. 527, n. 7577, p. 249-253, Nov. 2015. doi: 10.1038/nature15520.
148. PERVAIZ, A. et al. CCR5 blockage by maraviroc: a potential therapeutic option for metastatic breast cancer. **Cell Oncol.**, Dordrecht (Netherlands), v. 42, n. 1, p. 93-106, Feb. 2019. doi: 10.1007/s13402-018-0415-3.
149. PINILLA, S. et al. Tissue resident stem cells procure CCL5 under the influence of cancer cells and thereby promote breast cancer cell invasion. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 284, n. 1, p. 80-85, Oct. 2009. doi: 10.1016/j.canlet.2009.04.013.
150. PUCHERT, M. et al. CXCL11 promotes tumor progression by the biased use of the chemokine receptors CXCR3 and CXCR7. **Cytokine**, Oxford (England), v. 125, p. 154809, Jan. 2020. doi: 10.1016/j.cyto.2019.154809.
151. RACIOPPI, L. et al. CaMKK2 in myeloid cells is a key regulator of the immune-suppressive microenvironment in breast cancer. **Nat. Commun.**, London (England), v. 10, n. 1, p. 2450, June 2019. doi: 10.1038/s41467-019-10424-5.
152. ROMERO-MORENO, R. et al. The CXCL5/CXCR2 axis is sufficient to promote breast cancer colonization during bone metastasis. **Nat. Commun.**, London (England), v. 10, n. 1, p. 4404, Sept. 2019. doi: 10.1038/s41467-019-12108-6.
153. RUIZ-GARCIA, E. et al. Gene expression profiling identifies fibronectin 1 and CXCL9 as candidate biomarkers for breast cancer screening. **Br. J. Cancer**, London (England), v. 102, n. 3, p. 462-468, Feb. 2010. doi: 10.1038/sj.bjc.6605511.
154. RUPERTUS, K. et al. Interaction of the chemokines I-TAC (CXCL11) and SDF-1 (CXCL12) in the regulation of tumor angiogenesis of colorectal cancer. **Clin. Exp. Metastasis**, London (England), v. 31, n. 4, p. 447-459, Apr. 2014. doi: 10.1007/s10585-014-9639-4.
155. SADEGHI, M. et al. Serum levels of chemokines CCL4 and CCL5 in cirrhotic patients indicate the presence of hepatocellular carcinoma. **Br. J. Cancer**, London (England), v. 113, n. 5, p. 756-762, Sept. 2015. doi: 10.1038/bjc.2015.227.
156. SAEKI, H.; TAMAKI, K. Thymus and activation regulated chemokine (TARC)/CCL17 and skin diseases. **J. Dermatol. Sci.**, Amsterdam (Netherlands), v. 43, n. 2, p. 75-84, Aug. 2006. doi: 10.1016/j.jdermsci.2006.06.002.
157. SALMI, M.; JALKANEN, S. Cell-surface enzymes in control of leukocyte trafficking. **Nat. Rev. Immunol.**, London (England), v. 5, n. 10, p. 760-771, Oct. 2005. doi: 10.1038/nri1705.
158. SASAKI, S. et al. Essential roles of the interaction between cancer cell-derived chemokine, CCL4, and intra-bone CCR5-expressing fibroblasts in breast cancer bone metastasis. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 378, n. 1, p. 23-32, Aug. 2016. doi: 10.1016/j.canlet.2016.05.005.
159. SAWANT, K. V. et al. Chemokine CXCL1 mediated neutrophil recruitment: role of glycosaminoglycan interactions. **Sci. Rep.**, London (England), v. 6, p. 33123, Sept. 2016. doi: 10.1038/srep33123.
160. SCHALLER, T. H. et al. Chemokines as adjuvants for immunotherapy: implications for immune activation with CCL3. **Expert Rev. Clin. Immunol.**, London (England), v. 13, n. 11, p. 1049-1060, Nov. 2017. doi: 10.1080/1744666X.2017.1384313.
161. SEO, W. et al. Runx-mediated regulation of CCL5 via antagonizing two enhancers influences immune cell function and anti-tumor immunity. **Nat. Commun.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 1562, Mar. 2020. doi: 10.1038/s41467-020-15375-w.
162. SHAH, K. et al. The emerging roles of eosinophils in mucosal homeostasis. **Mucosal Immunol.**, New York (United States), v. 13, n. 4, p. 574-583, July 2020. doi: 10.1038/s41385-020-0281-y.
163. SHEN, D. et al. ADO/hypotaourine: a novel metabolic pathway contributing to glioblastoma development. **Cell Death Discov.**, New York (United States), v. 7, n. 1, p. 21, Jan. 2021. doi: 10.1038/s41420-020-00398-5.
164. SHENG, X. et al. Axitinib in combination with toripalimab, a humanized immunoglobulin G4 monoclonal antibody against programmed cell death-1, in patients with metastatic mucosal melanoma: an open-label phase IB trial. **J. Clin. Oncol.**, Alexandria (United States), v. 37, n. 32, p. 2987-2999, Nov. 2019. doi: 10.1200/JCO.19.00210.
165. SINGH, J. K. et al. Recent advances reveal IL-8 signaling as a potential key to targeting breast cancer stem cells. **Breast Cancer Res.**, London (England), v. 15, n. 4, p. 210, 2013. doi: 10.1186/bcr3436.
166. SORIA, G.; BEN-BARUCH, A. The inflammatory chemokines CCL2 and CCL5 in breast cancer. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 267, n. 2, p. 271-285, Aug. 2008. doi: 10.1016/j.canlet.2008.03.018.
167. SPIVAK, J. L. et al. Two clinical phenotypes in polycythemia vera. **N. Engl. J. Med.**, Boston (United States), v. 371, n. 9, p. 808-817, Aug. 2014. doi: 10.1056/NEJMoa1403141.
168. St JOHN, M. A. R. et al. Interleukin 6 and interleukin 8 as potential biomarkers for oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, Chicago (United States), v. 130, n. 8, p. 929-935, Aug. 2004. doi: 10.1001/archotol.130.8.929.
169. STAVERSKY, R. J. et al. The chemokine CCL3 regulates myeloid differentiation and hematopoietic stem cell numbers. **Sci. Rep.**, London (England), v. 8, n. 1, p. 14691, Oct. 2018. doi: 10.1038/s41598-018-32978-y.
170. SUN, C. et al. MCP-1/CCR-2 axis in adipocytes and cancer cell respectively facilitates ovarian cancer peritoneal metastasis. **Oncogene**, Basingstoke (England), v. 39, n. 8, p. 1681-1695, Feb. 2020. doi: 10.1038/s41388-019-1090-1.
171. TAKI, M. et al. Snail promotes ovarian cancer progression by recruiting myeloid-derived suppressor cells via CXCR2 ligand upregulation. **Nat. Commun.**, London (England), v. 9, n. 1, p. 1685, Apr. 2018. doi: 10.1038/s41467-018-03966-7.
172. TAN, S. et al. CXCL9 promotes prostate cancer progression through inhibition of cytokines from T cells. **Mol. Med. Rep.**, Athens (Greece), v. 18, n. 2, p. 1305-1310, Aug. 2018. doi: 10.3892/mmr.2018.9152.
173. TERPOS, E. et al. Serum levels of macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1alpha) correlate with the extent of bone disease and survival in patients with multiple myeloma. **Br. J. Haematol.**, Oxford (England), v. 123, n. 1, p. 106-109, Oct. 2003. doi: 10.1046/j.1365-2141.2003.04561.x.
174. TONG, H. et al. Tumor-associated macrophage-derived CXCL8 could induce ER $\alpha$  suppression via HOXB13 in endometrial cancer. **Cancer Lett.**, Limerick (Ireland), v. 376, n. 1, p. 127-136, June 2016. doi: 10.1016/j.canlet.2016.03.036.
175. VALETA-MAGARA, A. et al. Pro-oncogenic cytokines and growth factors are differentially expressed in the post-surgical wound fluid from malignant compared to benign breast lesions. **SpringerPlus**, Switzerland, v. 4, p. 483, Sept. 2015. doi: 10.1186/s40064-015-1260-8.
176. VISHNUBALAJI, R. et al. Integrated transcriptome and pathway analyses revealed multiple activated pathways in breast cancer. **Front. Oncol.**, Lausanne (Switzerland), v. 9, p. 910, Sept. 2019. doi: 10.3389/fonc.2019.00910.
177. WANG, N. et al. CXCL1 derived from tumor-associated macrophages promotes breast cancer metastasis via activating NF- $\kappa$ B/SOX4 signaling. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 9, n. 9, p. 880, Aug. 2018. doi: 10.1038/s41419-018-0876-3.

178. WANG, R.-X. et al. Value of CXCL8-CXCR1/2 axis in neoadjuvant chemotherapy for triple-negative breast cancer patients: a retrospective pilot study. **Breast Cancer Res. Treat.**, The Hague (Netherlands), v. 181, n. 3, p. 561-570, June 2020. doi: 10.1007/s10549-020-05660-z.
179. WANG, T. et al. C-C motif chemokine ligand 5 (CCL5) levels in gastric cancer patient sera predict occult peritoneal metastasis and a poorer prognosis. **Int. J. Surg.**, London (England), v. 32, p. 136-142, Aug. 2016. doi: 10.1016/j.ijsu.2016.07.008.
180. WANG, T. et al. Estrogen/ER in anti-tumor immunity regulation to tumor cell and tumor microenvironment. **Cancer Cell Int.**, London (England), v. 21, n. 1, p. 295, June 2021. doi: 10.1186/s12935-021-02003-w.
181. WANG, Y. et al. HIC1 deletion promotes breast cancer progression by activating tumor cell/fibroblast crosstalk. **J. Clin. Invest.**, Ann Arbor (United States), v. 128, n. 12, p. 5235-5250, Dec. 2018. doi: 10.1172/JCI99974.
182. WANG, Y.-Y. et al. Visfatin enhances breast cancer progression through CXCL1 induction in tumor-associated macrophages. **Cancers**, Basel (Switzerland), v. 12, n. 12, p. 3526, Nov. 2020. doi: 10.3390/cancers12123526.
183. WASILKO, D. J. et al. Structural basis for chemokine receptor CCR6 activation by the endogenous protein ligand CCL20. **Nat. Commun.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 3031, June 2020. doi: 10.1038/s41467-020-16820-6.
184. WILLIAMS, M. M. et al. MicroRNA-200c restoration reveals a cytokine profile to enhance M1 macrophage polarization in breast cancer. **NPJ Breast Cancer**, New York (United States), v. 7, n.1, p. 64, May 2021. doi: 10.1038/s41523-021-00273-1.
185. WOLF, M. J. et al. Endothelial CCR2 signaling induced by colon carcinoma cells enables extravasation via the JAK2-STAT5 and p38MAPK pathway. **Cancer Cell**, Cambridge (United States), v. 22, n. 1, p. 91-105, July 2012. doi: 10.1016/j.ccr.2012.05.023.
186. WONG, P.-P. et al. Cancer burden is controlled by mural cell-β3-integrin regulated crosstalk with tumor cells. **Cell**, Cambridge (United States), v. 181, n. 6, p. 1346-1363, June 2020. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.003.
187. WU, X. et al. CXCL10 mediates breast cancer tamoxifen resistance and promotes estrogen-dependent and independent proliferation. **Mol. Cell Endocrinol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 512, p. 110866, July 2020. doi: 10.1016/j.mce.2020.110866.
188. XIANG, W. et al. Dietary fats suppress the peritoneal seeding of colorectal cancer cells through the TLR4/Cxcl10 axis in adipose tissue macrophages. **Signal Transduct. Target. Ther.**, London (England), v. 5, n. 1, p. 239, Oct. 2020. doi: 10.1038/s41392-020-00327-z.
189. XIAO, P. et al. Myeloid-restricted ablation of Shp2 restrains melanoma growth by amplifying the reciprocal promotion of CXCL9 and IFN-γ production in tumor microenvironment. **Oncogene**, Basingstoke (England), v. 37, n. 37, p. 5088-5100, Sept. 2018. doi: 10.1038/s41388-018-0337-6.
190. XIONG, T.-F. et al. Prognostic value of the expression of chemokines and their receptors in regional lymph nodes of melanoma patients. **J. Cell Mol. Med.**, Bucharest (Romania), v. 24, n. 6, p. 3407-3418, Mar. 2020. doi: 10.1111/jcmm.15015.
191. XU, W. W. et al. Cancer cell-secreted IGF2 instigates fibroblasts and bone marrow-derived vascular progenitor cells to promote cancer progression. **Nat. Commun.**, London (England), v. 8, p. 14399, Feb. 2017. doi: 10.1038/ncomms14399.
192. XU, Y. et al. Novel module and hub genes of distinctive breast cancer associated fibroblasts identified by weighted gene co-expression network analysis. **Breast Cancer**, Tokyo (Japan), v. 27, n. 5, p. 1017-1028, Sept. 2020. doi: 10.1007/s12282-020-01101-3.
193. YAO, M. et al. Elevated expression of chemokine C-C ligand 2 in stroma is associated with recurrent basal-like breast cancers. **Mod. Pathol.**, New York (United States), v. 29, n. 8, p. 810-823, Aug. 2016. doi: 10.1038/modpathol.2016.78.
194. YOSHIMURA, T. The chemokine MCP-1 (CCL2) in the host interaction with cancer: a foe or ally? **Cell Mol. Immunol.**, Beijing (China), v. 15, n. 4, p. 335-345, Apr. 2018. doi: 10.1038/cmi.2017.135.
195. YOSHIMURA, T. The production of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)/CCL2 in tumor microenvironments. **Cytokine**, Oxford (England), v. 98, p. 71-78, Oct. 2017. doi: 10.1016/j.cyto.2017.02.001.
196. YOUNES, A. et al. Brentuximab vedotin (SGN-35) for relapsed CD30-positive lymphomas. **N. Engl. J. Med.**, Boston (United States), v. 363, n. 19, p. 1812-1821, Nov. 2010. doi: 10.1056/NEJMoa1002965.
197. YU, L. et al. Comprehensive analysis of the expression and prognostic value of CXC chemokines in colorectal cancer. **Int. Immunopharmacol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 89, n. pt B, p. 107077, Dec. 2020. doi: 10.1016/j.intimp.2020.107077.
198. YUAN, A. et al. Aberrant p53 expression correlates with expression of vascular endothelial growth factor mRNA and interleukin-8 mRNA and neoangiogenesis in non-small-cell lung cancer. **J. Clin. Oncol.**, New York (United States), v. 20, n. 4, p. 900-910, Feb. 2002. doi: 10.1200/JCO.2002.20.4.900.
199. ZENG, X. et al. Cell cycle-related kinase reprograms the liver immune microenvironment to promote cancer metastasis. **Cell Mol. Immunol.**, Beijing (China), v. 18, n. 4, p. 1005-1015, Apr. 2021. doi: 10.1038/s41423-020-00534-2.
200. ZHANG, B. et al. Development and verification of an immune-related gene pairs prognostic signature in ovarian cancer. **J. Cell Mol. Med.**, Bucharest (Romania), v. 25, n. 6, p. 2918-2930, Mar. 2021. doi: 10.1111/jcmm.16327.
201. ZHANG, J.; HU, D. miR-1298-5p influences the malignancy phenotypes of breast cancer cells by inhibiting CXCL11. **Cancer Manag. Res.**, Auckland (New Zealand), v. 13, p. 133-145, Jan. 2021. doi: 10.2147/CMAR.S279121.
202. ZHANG, R. et al. Combination of MIG (CXCL9) chemokine gene therapy with low-dose cisplatin improves therapeutic efficacy against murine carcinoma. **Gene Ther.**, London (England), v. 13, n. 17, p. 1263-1271, Sept. 2006. doi: 10.1038/sj.gt.3302756.
203. ZHANG, S. et al. CCL5-deficiency enhances intratumoral infiltration of CD8<sup>+</sup> T cells in colorectal cancer. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 9, n. 7, p. 766, July 2018. doi: 10.1038/s41419-018-0796-2.
204. ZHANG, T. et al. CXCL1 mediates obesity-associated adipose stromal cell trafficking and function in the tumour microenvironment. **Nat. Commun.**, London (England), v. 7, p. 11674, May 2016. doi: 10.1038/ncomms11674.
205. ZHAO, Z. et al. Systemic tumour suppression via the preferential accumulation of erythrocyte-anchored chemokine-encapsulating nanoparticles in lung metastases. **Nat. Biomed. Eng.**, London (England), v. 5, n. 5, p. 441-454, May 2021. doi: 10.1038/s41551-020-00644-2.
206. ZHENG, Z. et al. Irradiation induces cancer lung metastasis through activation of the cGAS-STING-CCL5 pathway in mesenchymal stromal cells. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 11, n. 5, p. 326, May 2020. doi: 10.1038/s41419-020-2546-5.
207. ZINEH, I.; WELDER, G. J.; LANGAEE, T. Y. Development and cross-validation of sequencing-based assays for genotyping common polymorphisms of the CXCL5 gene. **Clin. Chim. Acta**, Amsterdam (Netherlands), v. 370, n. 1-2, p. 72-75, Aug. 2006. doi: 10.1016/j.cca.2006.01.025.
208. ZUO, H. et al. Differential regulation of breast cancer bone metastasis by PARP1 and PARP2. **Nat. Commun.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 1578, Mar. 2020. doi: 10.1038/s41467-020-15429-z.

Tabela Suplementar 2. Quimiocinas e suas correlações com doenças não neoplásicas.<sup>4,5</sup>

Quimiocina	Correlações (significativas)	
<b>MCP1/ CCL2</b>	<b>Monocyte Chemoattractant Protein1 (MCP1)</b>	
	Induz infiltração de Treg na placenta em camundongos, <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	52
	MCP1/CCL2, em pacientes com diabetes mellitus modula a migração de macrófagos para as feridas na pele, com alteração na recuperação	146
	Hiperexpressão de MCP1/CCL2 = predisposição à infecção por tuberculose na população indiana, dependente do polimorfismo nos genes dos receptores CCR2 e TLR4	133
	Infectados pelo HIV e hiperexpressão de MCP1/CCL2 e CXCL12 = maior risco de falha imunológica, apesar da terapia antirretroviral	156
	Hipoexpressão de MCP1/CCL2 em pacientes com hanseníase, mas os contatos familiares apresentam hipoexpressão	118
	Expressão de MCP1/CCL2 diretamente proporcional a intensidade da dor, em ratos submetidos a lesão de plexos nervosos	73; 150; 152
	Hiperexpressão induz prejuízo da função cognitiva de ratos	16
	Hiperexpressa em pacientes com osteoartrite, notadamente no genótipo CC	153
	MCP1/CCL2 induz células osteoclásticas multinucleadas, em cultura	163
	MCP1/CCL2 está associada a maior perda óssea pela ooforectomia em camundongos	5
	Expressão de MCP1/CCL2 na osteoporose, ou metástases ósseas, pelo câncer de próstata é essencial para o efeito do paratormônio induzir remodelação fisiológica no osso	129
	MCP1/CCL2 está relacionada à fisiopatologia da psoríase	3
	MCP1/CCL2 está relacionada à mortalidade de pacientes infartados	77
	MCP1/CCL2 está relacionada à obesidade e ao risco de doenças cardiovasculares	109
	MCP1/CCL2 está relacionada à evolução das lesões ateroscleróticas	149
	MCP1/CCL2 está relacionada aos nos processos alérgicos	43; 59
Hiperexpressão da MCP1/CCL2 em embriões fêmeas de ratas expostas ao etanol no pré-natal	13	
Hiperexpressão da MCP1/CCL2 ao uso de álcool em ratos com interferência na modulação na função sináptica	7	
Expressão simultânea de MCP1/CCL2, Rantes/CCL5, Eotaxin/CCL11 = neurotóxica, e severidade dos sintomas do ciclo menstrual, da depressão e da ansiedade em mulheres	123	
<b>MIP1α/ CCL3</b>	<b>Macrophage Inflammatory alpha-1 Protein (MIP1α)</b>	
	Ausência desta quimiocina = menos inflamação após a lesão medular, por esmagamento da coluna torácica, em modelos animais	111
	Maior expressão de MIP1α/CCL3, MCP1/CCL2 e Rantes/CCL5 nas articulações de pacientes com artrite reumatoide ou esclerose múltipla apresentam	14
	MIP1α/CCL3 induz migração de macrófagos na inflamação inicial do aneurisma; macrófagos secretam metaloproteinases = degradação do colágeno e elastina, em camundongos	56
	Na infecção pulmonar induzida clamídia, em camundongos, MIP1α/CCL3, Rantes/CCL5, IP10/CXCL10 = regulam positivamente a resposta Th1	161
Células T CD8 tem atividade supressora ao HIV-1, em humanos, atribuível à MIP1α/CCL3, Rantes/CCL5, e MIP1β/CCL4, em intensidade diferente pelo SNPs, interferindo na história natural desta infecção	100	

Continua

<sup>4</sup> Legenda após a tabela completa, na página 202.

<sup>5</sup> As referências bibliográficas desta tabela se encontram após a tabela, na página 203.

Continuação

<b>MIP1β/ CCL4</b>	<b>Macrophage Inflammatory beta-1 Protein (MIPβ)</b>	
	Com o envelhecimento = maior expressão de MIP1β/CCL4 = maior expressão de monócitos e células T CD8 <i>naive</i> , em humanos	19
	Regulação positiva de MIP1β/CCL4 na osteoartrite = promove a sua proliferação, ativando a via de sinalização NF-κB, em modelos animais	154
	MIP1β/CCL4, e seu receptor CCR5, competem com o ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa-B (RANKL) = inibição da diferenciação de osteoclastos, em camundongos	76
	Fator de transcrição YY1 regula a transcrição de MIP1β/CCL4 = juntos se correlacionam com o TGF-β = hiperexpressos nos tecidos pulmonares de camundongos com tuberculose	119
	Menor expressão de MIP1β/CCL4 em pacientes submetidos a transplante pulmonar = sem rejeição aguda	20
<b>Rantes/ CCL5</b>	<b>Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed, and Secreted (RANTES)</b>	
	Rantes/CCL5 no genótipo TT (rs2280789) = maior expressão em células T = maior imunidade Th1 = maior proteção contra a tuberculose	132
	Polimorfismo de CCR1 (rs3733096) e de Rantes/CCL5 (rs3817656) = eliminação espontânea do vírus da hepatite C em parte da população chinesa	155
	Camundongos sem expressão de Rantes/CCL5 = imunocomprometidos = eliminação viral retardada e morte por infecção dos vírus parainfluenza ou influenza	145
	Hiperexpressão de Rantes/CCL5 em pacientes pediátricos = maior sobrevivência quando infectados pelo vírus Ebola	92
	Rantes/CCL5 é secretada no fígado pelos hepatócitos, macrófagos e células endoteliais, regula o recrutamento e a migração de células T e NK pela via CCR1 neste órgão (Revisão)	18
	Lesões hepáticas induzidas por drogas em pacientes e modelos animais = Rantes/CCL5 aumentada; na deficiência desta quimiocina há maior reparo tecidual na fase tardia	78
	Cultura de células de pacientes com artrite reumatoide = destruição do osso e cartilagens pelos sinoviócitos, ativados pelas metaloproteinase e Rantes/CCL5, MIG/CXCL9 e IP10/CXCL10, com efeitos sinérgicos ao IFN-γ	158
	Gravidade da artrite pode ocorrer pela amplificação de macrófagos IL-7R, ativados pela Rantes/CCL5	63
	Hiperexpressão de Rantes/CCL5 = promove neuroinflamação deletéria na esclerose múltipla, na leucoencefalopatia multifocal, na malária cerebral e nos distúrbios neurocognitivos associados ao HIV (Revisão)	91
	Doença de Parkinson = exacerbação inflamatória com maiores concentrações periféricas da Rantes/CCL5 e outra citocinas (Revisão)	117
	Rantes/CCL5 interfere nos processos algícos = a administração intraplantar, em baixas doses em camundongos = hiperalgesia; mas em doses ligeiramente superior = ativação de mecanismos antinociceptivos compensatórios	46
	Hiperexpressão de Rantes/CCL5 em pacientes na ruptura do aneurisma subaracnoide = maior resolução pela indução do processo inflamatório eficaz	15
Na endometriose, com lesões ectópicas e líquido peritoneal = maior infiltração de monócitos, eosinófilos e células T atraídos pela produção de Rantes/CCL5 e MCP1/CCL2	165	
<b>Eotaxina/ CCL11</b>	<b>Eosinophil chemotactic proteins (Eotaxina)</b>	
	No transtorno de estresse pós-traumático = hiperexpressão de Eotaxina/CCL11, CCL13, MIP3α/CCL20 e CCL25 = associadas com a gravidade dos sintomas	160
	Eotaxina/CCL11 = hipótese de ação no envelhecimento cerebral acelerado pelo transtorno bipolar	101
	Camundongos idosos hiperexpressão a Eotaxina/CCL11, com redução da neurogênese, prejudicando o aprendizado e a memória, diferentemente de camundongos jovens	147
	Hiperexpressão de Eotaxina/CCL11 detectadas no soro de homens usuários do tabaco e de substâncias ilícitas	88
	Hiperexpressão de Eotaxina/CCL26 no soro e líquido em pacientes com doença de Alzheimer	135
	Na colangite todas as Eotaxinas são reguladas positivamente	81
	Nos osteoblastos, mas não nos osteoclastos, em condições inflamatórias, há hiperexpressão de Eotaxina/CCL11 <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	64
	Hiperexpressão de Eotaxina/CCL11 nos bebês com extremo baixo peso ao nascer, e com displasia broncopulmonar = mais óbitos	61
	Hiperexpressão de Eotaxina/CCL11, Eotaxina/CCL24 e a Rantes/CCL5 no agravamento da asma	55; 115
	Na asma a expressão das Eotaxinas é variável na população, com diversidade nas manifestações clínicas, dependentes de SNPs	75; 97
	Hiperexpressão da Eotaxina/CCL11 elevada em pacientes em choque cardiogênico	23
	Hiperexpressão da Eotaxina/CCL11 proporcional com a extensão da fibrose do tecido do coração transplantado em camundongos	166
	Hiperexpressão de Eotaxina/CCL11 e inúmeras outras = mediadores da dor inflamatória (Revisão)	21
	Hiperexpressão das Eotaxinas na pele de pacientes com dermatite atópica em comparação com a pele não envolvida	107

Continua

continuação

<b>TARC/ CCL17</b>	<b>Thymus- and activation-regulated chemokine (TARC)</b>	
	Na fase embrionária de animais sinaliza a migração de células-tronco progenitoras para o fígado	69
	Na pele de camundongos a proliferação de queratinócitos basais é mediado pela TARC/CCL17 = induzindo ictiose, psoríase, dermatite e cânceres epidérmicos	45
	Na patogênese da alopecia areata = diferentes expressões de proteínas na imunidade inata (IL-6 e IL-8), na resposta Th1 (IFN $\gamma$ , MIG/CXCL9, IP10/CXCL10, ITAC/CXCL11), na resposta Th2 (CCL13, TARC/CCL17, CCL7) e na resposta Th17 (MIP3 $\alpha$ /CCL20, PI3, S100A12)	44
	No exantema maculopapular e eritema multiforme relacionados à medicamentos = eosinofilia e sintomas sistêmicos = níveis séricos de TARC/CCL17 se correlacionam positivamente com a gravidade das lesões	68
	Nas doenças alérgicas da conjuntiva = alta expressão da Eotóxina/CCL22, TARC/CCL17 e IL-4, indicadores de resposta Th2	128
	Na doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) os pacientes com enfisema mais grave = maiores níveis séricos de TARC/CCL17 em comparação aos pacientes estáveis	87
	Modelos de camundongos há colaboração da TARC/CCL17 nos processos álgicos, como nas doenças artríticas	41
	Na fase inicial da infecção por SARS-CoV-2 = IFN- $\lambda$ 3, IL-6, IP10/CXCL10, MIG/CXCL9 e TARC/CCL17 = hiperexpressões foram preditores de sintomas graves ou críticos, mas seguido de rápida hipopressão sérica antes da pneumonia	139
<b>MIP3<math>\alpha</math>/ CCL20</b>	<b>Macrophage Inflammatory alfa-3 Protein</b>	
	A inibição da MIP3 $\alpha$ /CCL20, em modelo murino de septicemia, aumenta a necrose epitelial, a TNF- $\alpha$ sérica e a mortalidade pela infecção	65
	Esta quimiocina é importante na regulação da imunidade mediada por células contra bactérias intracelulares, como a <i>Salmonella enteritidis</i>	32
	A lesão hepática crônica, de qualquer etiologia, tem participação intensa de citocinas e células inflamatórias	50
	Na hepatite alcoólica, em modelos animais, a maior infiltração de macrófagos pela hiperexpressão de MIP3 $\alpha$ /CCL20, promove a fibrose nesta patologia	58
	Na colite ulcerativa há menor expressão de células Tregs, induzida pela hiperexpressão de MIP3 $\alpha$ /CCL20	70
	A hiperexpressão de MIP3 $\alpha$ /CCL20 aumenta o risco de colangite biliar primária	84
	Inúmeras patologias inflamatórias como artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico e esclerose sistêmica apresentam a MIP3 $\alpha$ /CCL20 e outras quimiocinas hiperexpressas, com maior recrutamento de leucócitos, com maior dano tecidual	99
	Queratinócitos psoriáticos produzem peptídeos para a defesa com migração de células dendríticas e células T, e produção de TNF, IL-17 e IL-20, induzindo citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ , e quimiocinas, como IL-8/CXCL8, IP10/CXCL10 e MIP3 $\alpha$ /CCL20	98
	Na dermatite atópica a expressão de MIP3 $\alpha$ /CCL20, recrutadora de células Th17, é suprimida, e com menor expressão de Th17 do que na psoríase, há mais infecções da pele	142
	Nível sérico de MIP3 $\alpha$ /CCL20 está significativamente elevado em pacientes com vitiligo, sendo maior na doença ativo do que na doença estável	159
	Nos pacientes esquizofrênicos há expressão de vários marcadores de resposta inflamatória, com a MIP3 $\alpha$ /CCL20	11
	A MIP3 $\alpha$ /CCL20 atrai Treg CD4+CD25+CCR6+, envolvidos na resposta anti-inflamatória cerebral, atuante na fisiopatologia da esquizofrenia	1
	Em doenças inflamatórias e fibróticas do pulmão há aumento da expressão de MIP3 $\beta$ /CCL20, dependente da IL-1 $\beta$ e da TGF- $\beta$	6
Na obesidade há correlação de várias quimiocinas e citocinas com o IMC, sendo as principais as IL-6, IL-18, MCP1/CCL2, MIP3 $\alpha$ /CCL20, entre outras, todas também correlacionadas ao maior risco de doença vascular	109	
<b>GroAlfa/ CXCL1</b>	<b>Growth-Regulated Oncogene-alpha (GroAlfa)</b>	
	Na senescência celular há maior expressão de mais de 75 citocinas e inflamatórias. As células malignas contornam esse processo de envelhecimento pelas mutações de genes supressores de tumor, como o TP53 e o RB, interação das metaloproteinases e migração de fibroblastos secretadores de GroAlfa/CXCL1, CXCL2, IL-6 e outros fatores estimuladores	34
	Em modelos murinos submetidos a transplante pulmonar a hipopressão de GroAlfa/CXCL1 minimiza o processo inflamatório e melhora a evolução pós-transplante	8
	Em camundongos submetidos a isquemia hepática, a expressão de GroAlfa/CXCL1 e CXCL2 aumenta esta injúria, pelo recrutamento inicial de neutrófilos para a lesão	106
	Nas infecções bacterianas a GroAlfa/CXCL1, agonista de CXCR2, recruta os neutrófilos, liberando as proteases e espécies reativas de oxigênio (ROS)	125
	Na pneumonia bacteriana induzida em camundongos o uso de GroAlfa/CXCL1 recombinante aumenta a resposta granulocítica	9
	GroAlfa/CXCL1 aumento do influxo de neutrófilos para os pulmões, e melhor controle da disseminação bacteriana, em infecções induzidas em modelo animal	110
GroAlfa/CXCL1 interage com outros parasitas, como na amebíase hepática em camundongos, com aumento de monócitos produtores de TNF- $\alpha$	127	

Continua

Continuação

<b>GroAlfa/ CXCL1</b>	Em modelos animais foi demonstrado que o TNF- $\alpha$ é produzido nas células de Kupffer dos hepatócitos necrosados, induzindo as células viáveis a expressarem GroAlfa/CXCL1	138
	Na encefalite por vírus herpes simplex (HSV), em modelo murino, os astrócitos cerebrais secretam GroAlfa/CXCL1 e MCP1/CCL2, com maior morbidade	95
	Na presença de toxina fúngica as células da microglia aumentam a expressão de GroAlfa/CXCL1, com migração de neutrófilos CXCR2+, com melhora da imunidade antifúngica do SNC	28
	No leite materno de camundongas há hipoeexpressão de GroAlfa/CXCL1 e CXCL2 conforme aumenta a atividade física da mãe, e isso é benéfico, resultando em melhora cognitiva, emocional e comportamental na descendência sedentária destas progenitoras ativas	141
	A lesão por constrição de raízes nervosas em ratos aumenta os níveis séricos de GROAlfa/CXCL1 induzindo nocicepção	102
	Em pacientes com esclerose lateral amiotrófica (ELA) o sequenciamento de RNA em monócitos revelou hiperexpressão de IL-1B, IL-8, FOSB, GroAlfa/CXCL1 e CXCL2	162
	No córtex pré-frontal de indivíduos suicidas deprimidos há hiperexpressão de CXCL1/GroAlfa, CXCL2, CXCL3 e MCP1/CCL2	108
	O nível plasmático de GroAlfa/CXCL1 foi significativamente mais baixo em idosos com transtorno depressivo grave em comparação com voluntários saudáveis	35
	A hipertensão arterial causa danos à vasculatura com participação de células imunes e notadamente das quimiocinas MCP1/CCL2, Rantes/CCL5, GroAlfa/CXCL1, IL-8/CXCL8, MIG/CXCL9, IP10/CXCL10	96
	Após o acidente vascular cerebral há extensa neuroinflamação, com níveis aumentados, já no primeiro dia, de múltiplas quimiocinas e citocinas, como a GroAlfa/CXCL1, CXCL5, CCL9, G-CSF, e no quinto dia há aumento de Rantes/CCL5 e TNF em modelos murinos	136
	Na mutação do gene Tet2, ligado à hematopoiese, em camundongos, há tendência à aterosclerose e correção de outras duas centenas de genes, alguns altamente expressos como GroAlfa/CXCL1, CXCL2, CXCL3, IL-1b e IL-6 em macrófagos com Tet2 silenciado	57
	<b>ENA78/C XCL5</b>	<b>Epithelial-derived neutrophil-activating protein 78 (ENA78)</b>
Doenças inflamatórias, como gengivites em humanos e ratos, há níveis elevados de ENA78/CXCL5, IL-8/CXCL8 e IP10/CXCL10		120
Na doença pulmonar obstrutiva crônica, em humanos e camundongos, há aumento da ENA78/CXCL5 e de G-CSF		17
Na espondilite anquilosante, inflamação autoimune dos ossos, as células mielóides precursoras destes pacientes secretam mais ENA78/CXCL5, regulada pelo miR-4284		83
Na doença óssea de Paget, patologia focal crônica, há níveis até 180 vezes maiores de mRNA de ENA78/CXCL5 nas células da medula óssea, e de até 5 vezes mais no soro dos pacientes em comparação com controles saudáveis		140
<b>IL-8/ CXCL8</b>	<b>Interleukin-8 (IL-8)</b>	
	IL-8/CXCL8 é expressa em vários animais de maneira semelhante, mas com diferenças individuais	39
	O gene expressor da IL-8/CXCL8 está no cromossomo 4q13-q21, com polimorfismos, interferindo em intensidade diferente em diversas patologias, como na Diabetes mellitus tipo 2 ou na periodontite	131
	IL-8/CXCL8 colabora com a maturação das células intestinais do lactente, apresentando alta concentração no leite materno	89
	Pode haver hiperexpressão da IL-8/CXCL8 na asma e no DPOC	80
	Pode haver hiperexpressão da IL-8/CXCL8 na colite ulcerativa	164
	Pode haver hiperexpressão da IL-8/CXCL8 no líquido sinovial de pacientes com osteoartrite do joelho	40
	Pode haver hiperexpressão da IL-8/CXCL8 nas lesões de queratinócitos	37
	A hiperexpressão da IL-8/CXCL8 nos queratinócitos acelera o reparo destas feridas da pele	38
	Pacientes com doença de Parkinson expressão altos níveis plasmáticos de IL-8/CXCL8 e de MCP1/CCL2 e MIP1 $\alpha$ /CCL3	12
	As respostas quimiotáticas induzidas por IL-8/CXCL8, e outras quimiocinas, podem ser inibidas, mesmo que parcialmente, por opioides	93
	Bisfenol A (BPA) inibe a expressão de IL-8/CXCL8 em células estromais decíduas, causando dificuldade da implantação no embrião por inibição da invasão do trofoblasto	79
	Na comparação do perfil de quimiocinas de SARS-CoV-2, SARS-CoV e MERS-CoV pode-se concluir que IL-8/CXCL8, IP10/CXCL10 e MCP1/CCL2 são importantes para a patogênese pulmonar destas viroses	62
	IL-8/CXCL8, IP10/CXCL10 e MIP1 $\beta$ /CCL4 estão elevadas nos pacientes com HIV	134
	Na retinopatia diabética a maior expressão da IL-8/CXCL8 e do PDGF no humor vítreo e aquoso induz maior inflamação	126
	No aneurisma de aorta abdominal há expressão de IL-8/CXCL8 até 20 vezes maior, na parede do vaso, do que na doença aterosclerótica	67

Continua

continuação

<b>MIG/ CXCL9</b>	<b>Monokine induced by interferon-Gama (MIG)</b>	
	MIG/CXCL9, e outras 8 proteínas, estão significativamente associadas à mortalidade da população em geral. Ela é ligante do CXCR3 expresso em linfócitos T e células NK, atuando desde o recrutamento de células T para placas ateroscleróticas até na modulação do TME	27
	Níveis séricos elevados de MIG/CXCL9, após transplante alogênico de células-tronco, induz maior risco no desenvolvimento de doença do enxerto <i>versus</i> hospedeiro	24
	Níveis séricos elevados de MIG/CXCL9, após transplante alogênico de células-tronco, induz maior risco de disfunção renal	30
	As quimiocinas MIG/CXCL9 e IP10/CXCL10, induzidas pelo IFN, são secretadas em regiões distintas do linfonodo	137
	Na infecção viral a diferenciação das células T CD8+ efectoras é na periferia dos linfonodos, e na ausência de CXCR3 estas células T ficam no centro do linfonodo, diferenciando em precursores de células de memória	29
	A diferenciação de células Th é otimizada nas regiões perifoliculares ou interfoliculares do linfonodo, dependentes da MIG/CXCL9 estromal e de células dendríticas secretoras de IP10/CXCL10 e outras citocinas	36
	Em idosos a hiperexpressão de MIG/CXCL9 e IL-12 pode estar associada à fragilidade, com quedas recorrentes, e a hiperexpressão de TNF, IP10/CXCL10 e Rantes/CCL5 às quedas mais graves	25
	Na doença de Chagas os pacientes expressam níveis séricos mais elevados de MIG/CXCL9, IP10/CXCL10 e IL-1 $\beta$ e mais baixo de Rantes/CCL5	26
	Na síndrome hiperinflamatória em crianças com infecção por SARS-CoV-2, e na doença de Kawasaki, há maior expressão de MIG/CXCL9, induzido por IFN- $\gamma$ , com maior gravidade, em comparação às crianças com baixa expressão	122
	Níveis séricos de MIG/CXCL9 e IP10/CXCL10 estão altamente elevados após a terapia com células T CAR	33
	Níveis séricos de MIG/CXCL9 estão elevados na piora da periodontite apical	49
	Níveis séricos de MIG/CXCL9, e de várias outras quimiocinas, estão elevados em indivíduos com tuberculose ativa	71
<b>IP10/ CXCL10</b>	<b>Interferon gamma-induced protein 10 (IP10)</b>	
	Na esteatohepatite não alcoólica, induzida por gordura saturada, em camundongos, a não expressão de IP10/CXCL10 atenuou significativamente a inflamação e a fibrose hepática	142
	Em pacientes com hepatite C crônica há redução significativa de IP10/CXCL10 após a eliminação do vírus	148
	IP10/CXCL10 e IL-6 séricos hiperexpressos no doador do órgão são biomarcadores preditores de menor sobrevida do receptor após o transplante de fígado, e também de rim e coração	112
	Na infecção por SARS-COV-2 a IP10/CXCL10 e a MCP1/CCL2 têm atuação mais consistente com a gravidade	22
	Na infecção por SARS-COV-2 a IP10/CXCL10 é responsável pelo dano celular no pulmão, e mensura maior fatalidade aos pacientes com câncer de pulmão infectados pelo vírus	90
	Em pacientes falecidos de COVID-19 a expressão de MIG/CXCL9, IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11, indutoras da lesão do endotélio, foi associada significativamente a hemorragia intra-alveolar	104
	A IP10/CXCL10 e o IFN- $\alpha$ também são indutores de respostas autofágicas do macrófago humano às infecções pelos vírus H1N1, H5N1 e principalmente ao H9N2	74
	Na sarcoidose há hiperexpressão da IP10/CXCL10	2
	Na esclerose múltipla há hiperexpressão da IP10/CXCL10	42
	No vitiligo há hiperexpressão da IP10/CXCL10	144
	Na tuberculose pediátrica há hiperexpressão da IP10/CXCL10	72
	Na leishmaniose há hiperexpressão da IP10/CXCL10	31
	Na malária há hiperexpressão da IP10/CXCL10	51
	A asma e as alergias em crianças são precedidas por níveis aumentados de IP10/CXCL10 após o nascimento	54
	Na exacerbação da asma por infecção viral há hiperexpressão de IFN- $\gamma$ , IP10/CXCL10, ITAC/CXCL11, IL-15 e IL-5	48
	Na gravidez a gonadotrofina coriônica humana inibe a expressão de IP10/CXCL10, pela metilação da histona H3K27me3 que se liga ao gene promotor desta quimiocina, suprimindo sua expressão, aumentando o recrutamento de células T CD8	130

Continua



continuação

ITAC/ CXCL11	Interferon- $\gamma$ -inducible T-cell chemoattractant (ITAC)	
	A ativação de ITAC/CXCL11, dependente de CXCR3 e de CXCR7, é fundamental no recrutamento de células-tronco para o desenvolvimento de músculos esqueléticos	114
	ITAC/CXCL11 é secretado por leucócitos, fibroblastos e células endoteliais com estímulo simultâneo de IFN e IL-1, mas as variantes truncadas desta quimiocina não têm plena capacidade de quimiotaxia de células Th1 e NK	113
	A ITAC/CXCL11 se liga ao receptor CXCR7A, ou ACKR3, que pode ser sinalizado por peptídeos opioides, indutores de comportamento ansiolítico em camundongos	94
	ITAC/CXCL11 é dependente da ligação com glicosaminoglicanos nas membranas celulares, e proteínas extracelulares, protegendo-a das proteases	86
	O processo pró-angiogênico nunca é dependente de um único sinalizador, mas de vários outros, com o FGF2, IGF2, PDGF, VEGF, IDO, e múltiplas citocinas como IL-6, IL-8, MCP1/CCL2, TGF- $\beta$ 1, MIG/CXCL9, IP-10/CXCL10 e ITAC/CXCL11	116
	Em indivíduos com sobrepeso ou obesos há aumento da expressão, no tecido adiposo, das quimiocinas MIG/CXCL9, IP-10/CXCL10 e ITAC/CXCL11	66
	Em pacientes com IMC acima de 40 os níveis séricos de IP10/CXCL10 e ITAC/CXCL11 foram significativamente maiores do que em controles saudáveis	53
	Há hiperexpressão de ITAC/CXCL11 na colite ulcerativa	4
	Há hiperexpressão de ITAC/CXCL11 na dermatite atópica	47; 121
	Há hiperexpressão de ITAC/CXCL11 na síndrome de Sjögren	105
	Há hiperexpressão de ITAC/CXCL11 na aterosclerose e doenças cardiovasculares	103
	Há hiperexpressão de ITAC/CXCL11 nas doenças pulmonares intersticiais	60
	Há hiperexpressão de ITAC/CXCL11 na injúria do nervo espinhal	151
	Há hiperexpressão de ITAC/CXCL11 infecção pelo SARS-CoV-2	10
	Há hiperexpressão de ITAC/CXCL11 na infecção pelo HIV	157
	Há hiperexpressão de ITAC/CXCL11 na infecção pelo <i>Mycobacterium marinum</i>	124
	Há hiperexpressão de ITAC/CXCL11 na infecção pelo vírus herpes simples 1	82
	Na esclerose múltipla a ITAC/CXCL11 é regulada positivamente após o tratamento com IFN- $\beta$	85

Legenda: ACKR = receptor atípico de quimiocina; CCL = chemokine ligante; CCR = receptor de quimiocina da família CC; CXCL = CXC chemokine ligante; DPOC = doença pulmonar obstrutiva crônica; Eotaxina = eosinophil chemotactic proteins; FGF = fator de crescimento de fibroblasto; FOSB = proto-oncogene FOSB; G-CSF = Fator de crescimento de colônia de granulócitos; GroAlfa = growth-regulated oncogene-alpha; H1N1 = hemaglutinina H1 e neuraminidase N1; HIV = vírus da imunodeficiência humana; IDO = indolamina; IFN = interferon; IGF = fator de crescimento insulina like; IL = interleucina; IMC = índice de massa corporal; IP = interferon gama-induced protein; ITAC = interferon- $\gamma$ -inducible T-cell chemoattractant; MCP = monocyte chemoattractant protein; MERS-CoV = síndrome respiratória do Oriente Médio por coronavírus; MIG = monokine induced by interferon-G; mRNA = micro RNA; NF- $\kappa$ B = fator nuclear kappa B; NK = natural killer; PDGF = fator de crescimento derivado de plaquetas; PI3 = proteína fosfatidilinositol 3; Rantes = regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted; RB = gene supressor de tumor retinoblastoma; RNA = ácido ribonucleico; S100A12 = proteína de ligação ao cálcio, ou calgranulina; SARS-CoV-2 = coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave; SNC = sistema nervoso central; SNPs = single nucleotide polymorphism; T CAR = receptor quimero de antígeno de células T; T CD = células T; Tet2 = gene Tet2; TGF = fator de transformação de crescimento; Th = T helper; TLR = toll like receptor; TME = microambiente tumoral; TNF = fator de necrose tumoral; TP53 = gene supressor de tumor TP53; Treg = célula T reguladora; VEGF = fator de crescimento endotelial vascular.

### Referencia bibliográfica da tabela suplementar 2

1. AKKOUH, I. A. et al. Decreased IL-1 $\beta$ -induced CCL20 response in human iPSC-astrocytes in schizophrenia: potential attenuating effects on recruitment of regulatory T cells. **Brain Behav. Immun.**, Amsterdam (Netherlands), v. 87, p. 634-644, July 2020. doi: 10.1016/j.bbi.2020.02.008.
2. ARGER, N. K. et al. CXCL9 and CXCL10 are differentially associated with systemic organ involvement and pulmonary disease severity in sarcoidosis. **Respir. Med.**, Oxford (England), v. 161, p. 105822, Jan. 2020. doi: 10.1016/j.rmed.2019.105822.
3. BEHFAR, S. et al. A brief look at the role of monocyte chemoattractant protein-1 (CCL2) in the pathophysiology of psoriasis. **Cytokine**, Oxford (England), v. 110, p. 226-231, Oct. 2018. doi: 10.1016/j.cyto.2017.12.010.
4. BERGEMALM, D. et al. Systemic inflammation in preclinical ulcerative colitis. **Gastroenterology**, Baltimore (United States), v. 161, n. 5, p. 1526-1539.e9, Nov. 2021. doi: 10.1053/j.gastro.2021.07.026.
5. BINDER, N. B. et al. Estrogen-dependent and C-C chemokine receptor-2-dependent pathways determine osteoclast behavior in osteoporosis. **Nat. Med.**, New York (United States), v. 15, n. 4, p. 417-424, Apr. 2009. doi: 10.1038/nm.1945.
6. BRAND, O. et al. Transforming growth factor- $\beta$  and interleukin-1 $\beta$  signaling pathways converge on the chemokine CCL20 promoter. **J. Biol. Chem.**, Baltimore (United States), v. 290, n. 23, p. 14717-14728, June 2015. doi: 10.1074/jbc.M114.630368.
7. BRAY, J. G. et al. Altered hippocampal synaptic function in transgenic mice with increased astrocyte expression of CCL2 after withdrawal from chronic alcohol. **Neuropharmacology**, Oxford (England), v. 135, p. 113-125, June 2018. doi: 10.1016/j.neuropharm.2018.02.031.
8. CAI, J. et al. MicroRNA-206 antagomiR-enriched extracellular vesicles attenuate lung ischemia-reperfusion injury through CXCL1 regulation in alveolar epithelial cells. **J. Heart Lung Transplant.**, New York (United States), v. 39, n. 12, p. 1476-1490, Dec. 2020. doi: 10.1016/j.healun.2020.09.012.
9. CAI, S. et al. NLRP6 modulates neutrophil homeostasis in bacterial pneumonia-derived sepsis. **Mucosal Immunol.**, New York (United States), v. 14, n. 3, p. 574-584, May 2021. doi: 10.1038/s41385-020-00357-4.
10. CALLAHAN, V. et al. The pro-inflammatory chemokines CXCL9, CXCL10 and CXCL11 are upregulated following SARS-CoV-2 infection in an AKT-dependent manner. **Viruses**, Basel (Switzerland), v. 13, n. 6, p. 1062, June 2021. doi: 10.3390/v13061062.
11. CATHOMAS, F. et al. Increased random exploration in schizophrenia is associated with inflammation. **NPJ Schizophrenia**, New York (United States), v. 7, n. 1, p. 6, Feb. 2021. doi: 10.1038/s41537-020-00133-0.
12. CHAHINE, L. M. et al. Clinical and biochemical differences in patients having Parkinson disease with vs without GBA mutations. **JAMA Neurol.**, Chicago (United States), v. 70, n. 7, p. 852-858, July 2013. doi: 10.1001/jamaneurol.2013.1274.
13. CHANG, G.-Q. et al. CCL2/CCR2 chemokine system in embryonic hypothalamus: involvement in sexually dimorphic stimulatory effects of prenatal ethanol exposure on peptide-expressing neurons. **Neuroscience**, Oxford (England), v. 424, p. 155-171, Jan. 2020. doi: 10.1016/j.neuroscience.2019.10.013.
14. CHARO, S. F.; RANSOHOFF, R. M. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. **N. Engl. J. Med.**, Boston (United States), v. 354, n. 6, p. 610-621, Feb. 2006. doi: 10.1056/NEJMr052723.
15. CHAUDHRY, S. R. et al. Elevated level of cerebrospinal fluid and systemic chemokine CCL5 is a predictive biomarker of clinical outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH). **Cytokine**, Oxford (England), v. 133, p. 155142, Sept. 2020. doi: 10.1016/j.cyto.2020.155142.
16. CHEN, J. et al. Chemokine CCL2 impairs spatial memory and cognition in rats via influencing inflammation, glutamate metabolism and apoptosis - associated genes expression - a potential mechanism for HIV - associated neurocognitive disorder. **Life Sci.**, Amsterdam (Netherlands), v. 255, p. 117828, Aug. 2020. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117828.
17. CHEN, J. et al. The elevated CXCL5 levels in circulation are associated with lung function decline in COPD patients and cigarette smoking-induced mouse model of COPD. **Ann. Med.**, Helsinki (Finland), v. 51, n. 5-6, p. 314-329, Aug.-Sept. 2019. doi: 10.1080/07853890.2019.1639809.
18. CHEN, L. et al. Functional roles of CCL5/RANTES in liver disease. **Liver Research**, Amsterdam (Netherlands), v. 4, n. 1, p. 28-34, Mar. 2020. doi: 10.1016/j.livres.2020.01.002.
19. CHENG, N.-L. et al. MicroRNA-125b modulates inflammatory chemokine CCL4 expression in immune cells and its reduction causes CCL4 increase with age. **Aging Cell**, Oxford (England), v. 14, n. 2, p. 200-208, Apr. 2015. doi: 10.1111/acer.12294.
20. COLOBRAN, R. et al. Copy number variation in the CCL4L gene is associated with susceptibility to acute rejection in lung transplantation. **Gene Immun.**, Houndmills (England), v. 10, n. 3, p. 254-259, Apr. 2009. doi: 10.1038/gene.2008.96.
21. COOK, A. D. et al. Immune cytokines and their receptors in inflammatory pain. **Trends Immunol.**, Oxford (England), v. 39, n. 3, p. 240-255, Mar. 2018. doi: 10.1016/j.it.2017.12.003.
22. COPERCHINI, F. et al. The cytokine storm in COVID-19: further advances in our understanding the role of specific chemokines involved. **Cytokine Growth Factor Rev.**, Oxford (England), v. 58, p. 82-91, Apr. 2021. doi: 10.1016/j.cytogfr.2020.12.005.
23. CUINET, J. et al. Cardiogenic shock elicits acute inflammation, delayed eosinophilia, and depletion of immune cells in most severe cases. **Sci. Rep.**, London (England), v. 10, n. 1, p. 7639, May 2020. doi: 10.1038/s41598-020-64702-0.
24. DAI, H. et al. Polymorphisms in CXCR3 ligands predict early CXCL9 recovery and severe chronic GVHD. **Blood Cancer J.**, New York (United States), v. 11, n. 2, p. 42, Feb. 2021. doi: 10.1038/s41408-021-00434-2.
25. De AMORIM, J. S. C. et al. Inflammatory markers associated with fall recurrence and severity: the Bambuí cohort study of aging. **Exp. Gerontol.**, Oxford (England), v. 132, p. 110837, Apr. 2020. doi: 10.1016/j.exger.2020.110837.
26. De ARAÚJO, F. F. et al. CXCL9 and CXCL10 display an age-dependent profile in Chagas patients: a cohort study of aging in Bambuí, Brazil. **Infect. Dis. Poverty**, London (England), v. 9, n. 1, p. 51, May 2020. doi: 10.1186/s40249-020-00663-w.
27. DRAKE, I. et al. Methodological considerations for identifying multiple plasma proteins associated with all-cause mortality in a population-based prospective cohort. **Sci. Rep.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 6734, Mar. 2021. doi: 10.1038/s41598-021-85991-z.
28. DRUMMOND, R. A. et al. CARD9<sup>+</sup> microglia promote antifungal immunity via IL-1 $\beta$ - and CXCL1-mediated neutrophil recruitment. **Nat. Immunol.**, New York (United States), v. 20, n. 5, p. 559-570, May 2019. doi: 10.1038/s41590-019-0377-2.
29. DUCKWORTH, B. C. et al. Effector and stem-like memory cell fates are imprinted in distinct lymph node niches directed by CXCR3 ligands. **Nat. Immunol.**, New York (United States), v. 22, n. 4, p. 434-448, Apr. 2021. doi: 10.1038/s41590-021-00878-5.

30. EREZ, D. L. et al. Acute kidney injury in children after hematopoietic cell transplantation is associated with elevated urine CXCL10 and CXCL9. **Biol. Blood Marrow Transplant.**, Charlottesville (United States), v. 26, n. 7, p. 1266-1272, July 2020. doi: 10.1016/j.bbmt.2020.02.024.
31. EUFRÁSIO De FIGUEIREDO, W. M. et al. CXCL10 treatment promotes reduction of IL-10<sup>+</sup> regulatory T (Foxp3<sup>+</sup> and Tr1) cells in the spleen of BALB/c mice infected by *Leishmania infantum*. **Exp. Parasitol.**, New York (United States), v. 207, p. 107789, Dec. 2019. doi: 10.1016/j.exppara.2019.107789.
32. FAHY, O. L. et al. Control of Salmonella dissemination in vivo by macrophage inflammatory protein (MIP)-3alpha/CCL20. **Lab. Invest.**, New York (United States), v. 84, n. 11, p. 1501-1511, Nov. 2004. doi: 10.1038/labinvest.3700176.
33. FAJGENBAUM, D. C.; JUNE, C. H. Cytokine storm. **N. Engl. J. Med.**, Boston (United States), v. 383, n. 23, p. 2255-2273, Dec. 2020. doi: 10.1056/NEJMra2026131.
34. FANE, M.; WEERARATNA, A. How the ageing microenvironment influences tumour progression. **Nat. Rev. Cancer**, London (England), v. 20, n. 2, p. 89-106, Feb. 2020. doi: 10.1038/s41568-019-0222-9.
35. FANELLI, G. et al. Reduced CXCL1/GRO chemokine plasma levels are a possible biomarker of elderly depression. **J. Affect. Disord.**, Amsterdam (Netherlands), v. 249, p. 410-417, Apr. 2019. doi: 10.1016/j.jad.2019.02.042.
36. FOWELL, D.; KIM, M. The spatio-temporal control of effector T cell migration. **Nat. Rev. Immunol.**, London (England), v. 21, n. 9, p. 582-596, Sept. 2021. doi: 10.1038/s41577-021-00507-0.
37. FURUE, K. et al. Cyto/chemokine profile of in vitro scratched keratinocyte model: implications of significant upregulation of CCL20, CXCL8 and IL36G in Koebner phenomenon. **J. Dermatol. Sci.**, Amsterdam (Netherlands), v. 94, n. 1, p. 244-251, Apr. 2019. doi: 10.1016/j.jdermsci.2019.04.002.
38. FURUE, K. et al. Scratch wound-induced CXCL8 upregulation is EGFR-dependent in keratinocytes. **J. Dermatol. Sci.**, Amsterdam (Netherlands), v. 99, n. 3, p. 209-212, Sept. 2020. doi: 10.1016/j.jdermsci.2020.07.002.
39. GANGELE, K. et al. Unraveling the evolutionary origin of ELR motif using fish CXC chemokine CXCL8. **Fish Shellfish Immunol.**, London (United States), v. 93, p. 17-27, Oct. 2019. doi: 10.1016/j.fsi.2019.07.034.
40. GARCÍA-MANRIQUE, M. et al. Synovial fluid but not plasma interleukin-8 is associated with clinical severity and inflammatory markers in knee osteoarthritis women with joint effusion. **Sci. Rep.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 5258, Mar. 2021. doi: 10.1038/s41598-021-84582-2.
41. GENOVESE, M. C. et al. MRI of the joint and evaluation of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-CCL17 axis in patients with rheumatoid arthritis receiving otilimab: a phase 2a randomised mechanistic study. **Lancet Rheumatol.**, London (England), v. 2, n. 11, p. e666-e676, Nov. 2020. doi: 10.1016/S2665-9913(20)30224-1.
42. GILADI, A. et al. Cxcl10<sup>+</sup> monocytes define a pathogenic subset in the central nervous system during autoimmune neuroinflammation. **Nat. Immunol.**, New York (United States), v. 21, n. 5, p. 525-534, May 2020. doi: 10.1038/s41590-020-0661-1.
43. GLEZ, P. P.-R.; FRANCO, Y. B.-A.; MATHEU, V. MIP-1 $\alpha$ , MCP-1, and desensitization in anaphylaxis from cow's milk. **N. Engl. J. Med.**, Boston (United States), v. 367, n. 3, p. 282-284, July 2012. doi: 10.1056/NEJMc1200337.
44. GLICKMAN, J. W. et al. Cross-sectional study of blood biomarkers of patients with moderate to severe alopecia areata reveals systemic immune and cardiovascular biomarker dysregulation. **J. Am. Acad. Dermatol.**, St. Louis (United States), v. 84, n. 2, p. 370-380, Feb. 2021. doi: 10.1016/j.jaad.2020.04.138.
45. GOLDIE, S. J. et al. Loss of GRHL3 leads to TARC/CCL17-mediated keratinocyte proliferation in the epidermis. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 9, n. 11, p. 1072, Oct. 2018. doi: 10.1038/s41419-018-0901-6.
46. GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, S. et al. Hyperalgesic and hypoalgesic mechanisms evoked by the acute administration of CCL5 in mice. **Brain Behav. Immun.**, Amsterdam (Netherlands), v. 62, p. 151-161, May 2017. doi: 10.1016/j.bbi.2017.01.014.
47. GUTTMAN-YASSKY, E. et al. Use of tape strips to detect immune and Barrier abnormalities in the skin of children with early-onset atopic dermatitis. **JAMA Dermatol.**, Chicago (United States), v. 155, n. 12, p. 1358-1370, Dec. 2019. doi: 10.1001/jamadermatol.2019.2983.
48. HANSEL, T. T. et al. A comprehensive evaluation of nasal and bronchial cytokines and chemokines following experimental rhinovirus infection is allergic asthma: increased interferons (IFN- $\gamma$  and IFN- $\lambda$ ) and Type 2 inflammation (IL-5 and IL-13). **EBioMedicine**, Amsterdam (Netherlands), v. 19, p. 128-138, May 2017. doi: 10.1016/j.ebiom.2017.03.033.
49. HASEGAWA, T. et al. Inhibition of the CXCL9-CXCR3 axis suppresses the progression of experimental apical periodontitis by blocking macrophage migration and activation. **Sci. Rep.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 2613, Jan. 2021. doi: 10.1038/s41598-021-82167-7.
50. HE, Y. et al. Immunopathobiology and therapeutic targets related to cytokines in liver diseases. **Cell Mol. Immunol.**, Beijing (China), v. 18, n. 1, p. 18-37, Jan. 2021. doi: 10.1038/s41423-020-00580-w.
51. HIRAKO, I. C. et al. Splenic differentiation and emergence of CCR5<sup>+</sup> CXCL9<sup>+</sup> CXCL10<sup>+</sup> monocyte-derived dendritic cells in the brain during cerebral malaria. **Nat. Commun.**, London (England), v. 7, p. 13277, Nov. 2016. doi: 10.1038/ncomms13277.
52. HUANG, X. et al. Human chorionic gonadotropin promotes recruitment of regulatory T cells in endometrium by inducing chemokine CCL2. **J. Reprod. Immunol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 137, p. 102856, Feb. 2020. doi: 10.1016/j.jri.2019.102856.
53. HUESO, L. et al. Upregulation of angiostatic chemokines IP-10/CXCL10 and I-TAC/CXCL11 in human obesity and their implication for adipose tissue angiogenesis. **Int. J. Obes.**, London (England), v. 42, n. 8, p. 1406-1417, Aug. 2018. doi: 10.1038/s41366-018-0102-5.
54. HUOMAN, J. et al. Childhood CCL18, CXCL10 and CXCL11 levels differentially relate to and predict allergy development. **Pediatr. Allergy Immunol.**, Oxford (England), v. 32, n. 8, p. 1824-1832, Nov. 2021. doi: 10.1111/pai.13574.
55. ISGRÒ, M. et al. The C-C motif chemokine ligands CCL5, CCL11, and CCL24 induce the migration of circulating fibrocytes from patients with severe asthma. **Mucosal Immunol.**, New York (United States), v. 6, n. 4, p. 718-727, July 2013. doi: 10.1038/mi.2012.109.
56. ISHIDA, Y. et al. Prevention of CaCl<sub>2</sub>-induced aortic inflammation and subsequent aneurysm formation by the CCL3-CCR5 axis. **Nat. Commun.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 5994, Nov. 2020. doi: 10.1038/s41467-020-19763-0.
57. JAISWAL, S. et al. Clonal hematopoiesis and risk of atherosclerotic cardiovascular disease. **N. Engl. J. Med.**, Boston (United States), v. 377, n. 2, p. 111-121, July 2017. doi: 10.1056/NEJMoa1701719.

58. JI, X. et al. NLRP6 exerts a protective role via NF- $\kappa$ B with involvement of CCL20 in a mouse model of alcoholic hepatitis. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, San Diego (United States), v. 528, n. 3, p. 485-492, July 2020. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.05.171.
59. JIANG, S. et al. Blockade of CCL2/CCR2 signaling pathway prevents inflammatory monocyte recruitment and attenuates OVA-induced allergic asthma in mice. **Immunol. Lett.**, Amsterdam (Netherlands), v. 214, p. 30-36, Oct. 2019. doi: 10.1016/j.imlet.2019.08.006.
60. KAMEDA, M. et al. CXCL9, CXCL10, and CXCL11; biomarkers of pulmonary inflammation associated with autoimmunity in patients with collagen vascular diseases-associated interstitial lung disease and interstitial pneumonia with autoimmune features. **PLoS One**, San Francisco (United States), v. 15, n. 11, p. e0241719, Nov. 2020. doi: 10.1371/journal.pone.0241719.
61. KANDASAMY, J. et al. Serum eotaxin-1 is increased in extremely-low-birth-weight infants with bronchopulmonary dysplasia or death. **Pediatr. Res.**, New York (United States), v. 78, n. 5, p. 498-504, Nov. 2015. doi: 10.1038/pr.2015.152.
62. KHALIL, B. A.; ELEMAM, N. M.; MAGHAZACHI, A. A. Chemokines and chemokine receptors during COVID-19 infection. **Comput. Struct. Biotechnol. J.**, Gothenburg (Sweden), v. 19, p. 976-988, 2021. doi: 10.1016/j.csbj.2021.01.034.
63. KIM, S.-J. et al. Macrophages are the primary effector cells in IL-7-induced arthritis. **Cell Mol. Immunol.**, Beijing (China), v. 17, n. 7, p. 728-740, July 2020. doi: 10.1038/s41423-019-0235-z.
64. KINDSTEDT, E. et al. CCL11, a novel mediator of inflammatory bone resorption. **Sci. Rep.**, London (England), v. 7, n. 1, p. 5334, July 2017. doi: 10.1038/s41598-017-05654-w.
65. KITAGAWA, Y. et al. Inhibition of CCL20 increases mortality in models of mouse sepsis with intestinal apoptosis. **Surgery**, St. Louis (United States), v. 154, n. 1, p. 78-88, July 2013. doi: 10.1016/j.surg.2013.02.012.
66. KOCHUMON, S. et al. Adipose tissue gene expression of CXCL10 and CXCL11 modulates inflammatory markers in obesity: implications for metabolic inflammation and insulin resistance. **Ther. Adv. Endocrinol. Metab.**, Los Angeles (United States), v. 11, p. 2042018820930902, July 2020. doi: 10.1177/2042018820930902.
67. KOKJE, V. B. C. et al. CXCL8 hyper-signaling in the aortic abdominal aneurysm. **Cytokine**, Oxford (England), v. 108, p. 96-104, Aug. 2018. doi: 10.1016/j.cyto.2018.03.031.
68. KOMATSU-FUJII, T. et al. The thymus and activation-regulated chemokine (TARC) level in serum at an early stage of a drug eruption is a prognostic biomarker of severity of systemic inflammation. **Allergol. Int.**, London (England), v. 67, n. 1, p. 90-95, Jan. 2018. doi: 10.1016/j.alit.2017.06.001.
69. KONNO, K. Paracrine CCL17 and CCL22 signaling regulates hematopoietic stem/progenitor cell migration and retention in mouse fetal liver. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, San Diego (United States), v. 527, n. 3, p. 730-736, June 2020. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.04.045.
70. KULKARNI, N. et al. CCR6 signaling inhibits suppressor function of induced-Treg during gut inflammation. **J. Autoimmun.**, London (England), v. 88, p. 121-130, Mar. 2018. doi: 10.1016/j.jaut.2017.10.013.
71. KUMAR, N. P. et al. Plasma chemokines are biomarkers of disease severity, higher bacterial burden and delayed sputum culture conversion in pulmonary tuberculosis. **Sci. Rep.**, London (England), v. 9, n. 1, p. 18217, Dec. 2019. doi: 10.1038/s41598-019-54803-w.
72. KUMAR, N. P. et al. Plasma chemokines as immune biomarkers for diagnosis of pediatric tuberculosis. **BMC Infect. Dis.**, London (England), v. 21, n. 1, p. 1055, Oct. 2021. doi: 10.1186/s12879-021-06749-6.
73. KWIATKOWSKI, K. et al. Chemokines CCL2 and CCL7, but not CCL12, play a significant role in the development of pain-related behavior and opioid-induced analgesia. **Cytokine**, Oxford (England), v. 119, p. 202-213, July 2019. doi: 10.1016/j.cyto.2019.03.007.
74. LAW, A. H.-Y. et al. Cellular response to influenza virus infection: a potential role for autophagy in CXCL10 and interferon- $\alpha$  induction. **Cell Mol. Immunol.**, Beijing (China), v. 7, n. 4, p. 263-270, July 2010. doi: 10.1038/cmi.2010.25.
75. LEE, J.-H. et al. Genetic interactions model among eotaxin gene polymorphisms in asthma. **J. Hum. Genet.**, Tokyo (Japan), v. 53, n. 10, p. 867-875, 2008. doi: 10.1007/s10038-008-0314-y.
76. LEE, D. et al. CCL4 enhances preosteoclast migration and its receptor CCR5 downregulation by RANKL promotes osteoclastogenesis. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 9, n. 5, p. 495, May 2018. doi: 10.1038/s41419-018-0562-5.
77. LEOCÁDIO, P. C. L. et al. Low serum levels of CCL2 are associated with worse prognosis in patients with acute coronary syndrome: 2-year survival analysis. **Biomed. Pharmacother.**, New York (United States), v. 109, p. 1411-1416, Jan. 2019. doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.087.
78. LI, M. et al. CCL5 deficiency promotes liver repair by improving inflammation resolution and liver regeneration through M2 macrophage polarization. **Cell Mol. Immunol.**, Beijing (China), v. 17, n. 7, p. 753-764, July 2020. doi: 10.1038/s41423-019-0279-0.
79. LI, X. et al. Bisphenol A affects trophoblast invasion by inhibiting CXCL8 expression in decidual stromal cells. **Mol. Cell Endocrinol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 470, p. 38-47, July 2018. doi: 10.1016/j.mce.2017.07.016.
80. LIN, C.-H. et al. Mammalian target of rapamycin and p70S6K mediate thrombin-induced nuclear factor- $\kappa$ B activation and IL-8/CXCL8 release in human lung epithelial cells. **Eur. J. Pharmacol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 868, p. 172879, Feb. 2020. doi: 10.1016/j.ejphar.2019.172879.
81. LIN, F. et al. Association of CCL11, CCL24 and CCL26 with primary biliary cholangitis. **Int. Immunopharmacol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 67, p. 372-377, Feb. 2019. doi: 10.1016/j.intimp.2018.12.026.
82. LIND, L. et al. CXCL11 production in cerebrospinal fluid distinguishes herpes simplex meningitis from herpes simplex encephalitis. **J. Neuroinflammation**, London (England), v. 14, n. 1, p. 134, July 2017. doi: 10.1186/s12974-017-0907-5.
83. LIU, W. et al. Abnormal inhibition of osteoclastogenesis by mesenchymal stem cells through the miR-4284/CXCL5 axis in ankylosing spondylitis. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 10, n. 3, p. 188, Feb. 2019. doi: 10.1038/s41419-019-1448-x.
84. LLEO, A. et al. Primary biliary cholangitis. **Lancet**, London (England), v. 396, n. 10266, p. 1915-1926, Dec. 2020. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31607-X.
85. LOFTI, N. et al. Evaluation of the effect of GM-CSF blocking on the phenotype and function of human monocytes. **Sci. Rep.**, London (England), v. 10, n. 1, p. 1567, Jan. 2020. doi: 10.1038/s41598-020-58131-2.
86. LUKER, K. E. et al. Constitutive and chemokine-dependent internalization and recycling of CXCR7 in breast cancer cells to degrade chemokine ligands. **Oncogene**, Basingstoke (England), v. 29, n. 32, p. 4599-4610, Aug. 2010. doi: 10.1038/onc.2010.212.

87. MACHIDA, H. et al. Thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) predicts decline of pulmonary function in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Allergol. Int.**, London (England), v. 70, n. 1, p. 81-88, Jan. 2021. Doc: 10.1016/j.alit.2020.04.004.
88. MAGALHAES, P. V. S. et al. Peripheral eotaxin-1 (CCL11) levels and mood disorder diagnosis in a population-based sample of young adults. **J. Psychiatr. Res.**, Oxford (England), v. 48, n. 1, p. 13-15, Jan. 2014. doi: 10.1016/j.jpsychires.2013.10.007.
89. MAHESHWARI, A.; CHRISTENSEN, R. D.; CALHOUN, D. A. ELR+ CXC chemokines in human milk. **Cytokine**, Oxford (England), v. 24, n. 3, p. 91-102, Nov. 2003. doi: 10.1016/j.cyto.2003.07.002.
90. MAHMOOD, T. B. et al. Evaluation of the susceptibility and fatality of lung cancer patients towards the COVID-19 infection: a systemic approach through analyzing the ACE2, CXCL10 and their co-expressed genes. **Curr. Res. Microb. Sci.**, Amsterdam (Netherlands), v. 2, p. 100022, Dec. 2021. doi: 10.1016/j.crmicr.2021.100022.
91. MARTIN-BLONDEL, G. et al. CCR5 blockade for neuroinflammatory diseases – beyond control of HIV. **Nat. Rev. Neurol.**, London (England), v. 12, n. 2, p. 95-105, Feb. 2016. doi: 10.1038/nrneurol.2015.248.
92. McELROY, A. K. et al. Biomarker correlates of survival in pediatric patients with Ebola virus disease. **Emerg. Infect. Dis.**, Atlanta (United States), v. 20, n. 10, p. 1683-1690, Oct. 2014. doi: 10.3201/eid2010.140430.
93. MÉLIK PARSADANIANTZ, S. et al. Opioid and chemokine receptor crosstalk: a promising target for pain therapy? **Nat. Rev. Neurosci.**, London (England), v. 16, n. 2, p. 69-78, Feb. 2015. doi: 10.1038/nrn3858.
94. MEYRATH, M. et al. The atypical chemokine receptor ACKR3/CXCR7 is a broad-spectrum scavenger for opioid peptides. **Nat. Commun.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 3033, June 2020. doi: 10.1038/s41467-020-16664-0.
95. MICHAEL, B. D. et al. Astrocyte- and neuron-derived CXCL1 drives neutrophil transmigration and blood-brain Barrier permeability in viral encephalitis. **Cell Rep.**, Cambridge (United States), v. 32, n. 11, p. 108150, Sept. 2020. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108150.
96. MIKOLAJCZYK, T. P. et al. Role of inflammatory chemokines in hypertension. **Pharmacol. Ther.**, Oxford (England), v. 223, p. 107799, July 2021. doi: 10.1016/j.pharmthera.2020.107799.
97. MIN, J.-W. et al. Association of eotaxin-2 gene polymorphisms with plasma eotaxin-2 concentration. **J. Hum. Genet.**, Tokyo (Japan), v. 50, n. 3, p. 118-123, 2005. doi: 10.1007/s10038-005-0230-3.
98. MIOSSE, P.; KORN, T.; KUCHROO, V. K. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. **N. Engl. J. Med.**, Boston (United States), v. 361, n. 9, p. 888-898, Aug. 2009. doi: 10.1056/NEJMra0707449.
99. MIYABE, Y. et al. Chemokines in rheumatic diseases: pathogenic role and therapeutic implications. **Nat. Rev. Rheumatol.**, New York (United States), v. 15, n. 12, p. 731-746, Dec. 2019. doi: 10.1038/s41584-019-0323-6.
100. MODI, W. S. et al. Genetic variation in the CCL18-CCL3-CCL4 chemokine gene cluster influences HIV type 1 transmission and AIDS disease progression. **Am. J. Hum. Genet.**, Baltimore (United States), v. 79, n. 1, p. 120-128, July 2006. doi: 10.1086/505331.
101. MOHITE, S. et al. Eotaxin-1/CCL11 correlates with left superior temporal gyrus in bipolar disorder: a preliminary report suggesting accelerated brain aging. **J. Affect. Disord.**, Amsterdam (Netherlands), v. 273, p. 592-596, Aug. 2020. doi: 10.1016/j.jad.2020.05.062.
102. MORAES, T. R. et al. Participation of CXCL1 in the glial cells during neuropathic pain. **Eur. J. Pharmacol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 875, p. 173039, May 2020. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173039.
103. MORENO, B. et al. Association of chemokines IP-10/CXCL10 and I-TAC/CXCL11 with insulin resistance and enhance leukocyte endothelial arrest in obesity. **Microvasc. Res.**, New York (United State), v. 139, p. 104254, Jan. 2022. doi: 10.1016/j.mvr.2021.104254.
104. NIENHOLD, R. et al. Two distinct immunopathological profiles in autopsy lungs of COVID-19. **Nat. Commun.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 5086, Oct. 2020. doi: 10.1038/s41467-020-18854-2.
105. NORDMARK, G.; ALM, G. V.; RÖNNBLUM, L. Mechanisms of disease: primary Sjögren's syndrome and the type I interferon system. **Nat. Clin. Pract. Rheumatol.**, New York (United States), v. 2, n. 5, p. 262-269, May 2006. doi: 10.1038/ncprheum0173.
106. OLIVEIRA, T. H. C. et al. Neutrophils: a cornerstone of liver ischemia and reperfusion injury. **Lab. Invest.**, New York (United States), v. 98, n. 1, p. 51-62, Jan. 2018. doi: 10.1038/labinvest.2017.90.
107. OWCZAREK, W. et al. Analysis of eotaxin 1/CCL11, eotaxin 2/CCL24 and eotaxin 3/CCL26 expression in lesional and non-lesional skin of patients with atopic dermatitis. **Cytokine**, Oxford (England), v. 50, n. 2, p. 181-185, May 2010. doi: 10.1016/j.cyto.2010.02.016.
108. PANDEY, G. N. et al. Chemokines gene expression in the pre-frontal cortex of depressed suicide victims and normal control subjects. **Brain Behav. Immunol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 94, p. 266-273, May 2021. doi: 10.1016/j.bbi.2021.01.033.
109. PANG, Y. et al. Associations of adiposity, circulating protein biomarkers, and risk of major vascular diseases. **JAMA Cardiol.**, Chicago (United States), v. 6, n. 3, p. 276-286, Mar. 2021. doi: 10.1001/jamacardio.2020.6041.
110. PAUDEL, S. CXCL1 regulates neutrophil homeostasis in pneumonia-derived sepsis caused by *Streptococcus pneumoniae* serotype 3. **Blood**, New York (United States), v. 133, n. 12, p. 1335-1345, Mar. 2019. doi: 10.1182/blood-2018-10-878082.
111. PELISCH, N. et al. CCL3 contributes to secondary damage after spinal cord injury. **J. Neuroinflammation**, London (England), v. 17, n. 1, p. 362, Nov. 2020. doi: 10.1186/s12974-020-02037-3.
112. PIEMONTE, L. et al. Circulating CXCL10 and IL-6 in solid organ donors after brain death predict graft outcomes. **Sci. Rep.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 6624, Mar. 2021. doi: 10.1038/s41598-021-86085-6.
113. PROOST, P. et al. Proteolytic processing of CXCL11 by CD13/aminopeptidase N impairs CXCR3 and CXCR7 binding and signaling and reduces lymphocyte and endothelial cell migration. **Blood**, New York (United States), v. 110, n. 1, p. 37-44, July 2007. doi: 10.1182/blood-2006-10-049072.
114. PUCHERT, M. et al. Identification of CXCL11 as part of chemokine network controlling skeletal muscle development. **Cell Tissue Res.**, Berlin (Germany), v. 384, n. 2, p. 499-511, May 2021. doi: 10.1007/s00441-020-03398-0.
115. PUXEDDU, I. et al. The CC chemokine eotaxin/CCL11 has a selective profibrogenic effect on human lung fibroblasts. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis (United States), v. 117, n. 1, p. 103-110, Jan. 2006. doi: 10.1016/j.jaci.2005.08.057.
116. QI, C. et al. Exosome-mimicking nanovesicles derived from efficacy-potentiated stem cell membrane and secretome for regeneration of injured tissue. **Nano Res.**, New York (United States), v. 15, p. 1680-1690, 2022. doi.org/10.1007/s12274-021-3686-z.

117. QIN, X.-Y. et al. Aberrations in peripheral inflammatory cytokine levels in Parkinson disease: a systematic review and meta-analysis. **JAMA Neurol.**, Chicago (United States), v. 73, n. 11, p. 1316-1324, Nov. 2016. doi: 10.1001/jamaneurol.2016.2742.
118. QUEIROZ, E. A. et al. CCL2 and IFN- $\gamma$  serum levels as biomarkers for subclinical infection in household contacts of leprosy patients. **Microb. Pathog.**, London (England), v. 150, p. 104725, Jan. 2021. doi: 10.1016/j.micpath.2020.104725.
119. RANGEL-SANTIAGO, J. F. et al. A novel role of Yin-Yang-1 in pulmonar tuberculosis through the regulation of the chemokine CCL4. **Tuberculosis**, Edinburgh (Scotland), v. 96, p. 87-95, Jan. 2016. doi: 10.1016/j.tube.2015.10.013.
120. RATH-DESCHNER, B. et al. CXCL5, CXCL8, and CXCL10 regulation by bacteria and mechanical forces in periodontium. **Ann. Anat.**, Jena (Germany), v. 234, p. 151648, Mar. 2021. doi: 10.1016/j.aanat.2020.151648.
121. RENERT-YUVAL, Y. et al. Biomarkers in atopic dermatitis - a review on behalf of the International Eczema Council. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis (United States), v. 147, n. 4, p. 1174-1190.e1. Apr. 2021. doi: 10.1016/j.jaci.2021.01.013.
122. RODRIGUEZ-SMITH, J. et al. Inflammatory biomarkers in COVID-19-associated multisystem inflammatory syndrome in children, Kawasaki disease, and macrophage activation syndrome: a cohort study. **Lancet Rheumatol.**, London (England), v. 3, n. 8, p. e574-e584, Aug. 2021. doi: 10.1016/S2665-9913(21)00139-9.
123. ROOMRUANGWONG, C. et al. The uterine-chemokine-brain axis: menstrual cycle-associated symptoms (MCAS) are in part mediated by CCL2, CCL5, CCL11, CXCL8 and CXCL10. **J. Affect. Disord.**, Amsterdam (Netherlands), v. 269, p. 85-93, May 2020. doi: 10.1016/j.jad.2020.03.033.
124. ROUGEOT, J. et al. RNAseq profiling of leukocyte populations in zebrafish larvae reveals a CXCL11 chemokine gene as a marker of macrophage polarization during mycobacterial infection. **Front. Immunol.**, Lausanne (Switzerland), v. 10, p. 832, Apr. 2019. doi: 10.3389/fimmu.2019.00832.
125. SAWANTI, K. V. et al. Chemokine CXCL1 mediated neutrophil recruitment: role of glycosaminoglycan interactions. **Sci. Rep.**, London (England), v. 6, p. 33123, Sept. 2016. doi: 10.1038/srep33123.
126. SCHOENBERGER, S. D. et al. Reduction of interleukin 8 and platelet-derived growth factor levels by topical ketorolac, 0.45%, in patients with diabetic retinopathy. **JAMA Ophthalmol.**, Chicago (United States), v. 132, n. 1, p. 32-37, Jan. 2014. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2013.6203.
127. SELLAU, J. et al. Androgens predispose males to monocyte-mediated immunopathology by inducing the expression of leukocyte recruitment factor CXCL1. **Nat. Commun.**, London (England), v. 11, n. 1, p. 3459, July 2020. doi: 10.1038/s41467-020-17260-y.
128. SHOJI, J. Ocular allergy test and biomarkers on the ocular surface: clinical test for evaluating the ocular surface condition in allergic conjunctival diseases. **Allergol. Int.**, London (England), v. 69, n. 4, p. 496-504, Oct. 2020. doi: 10.1016/j.alit.2020.05.003.
129. SIDDIQUI, J. A.; PARTRIDGE, N. C. CCL2/monocyte chemoattractant protein 1 and parathyroid hormone action on bone. **Front Endocrinol.**, Lausanne (Switzerland), v. 8, p. 49, Mar. 2017. doi: 10.3389/fendo.2017.00049.
130. SILASI, M. et al. Human chorionic gonadotropin modulates CXCL10 expression through histone methylation in human decidua. **Sci. Rep.**, London (England), v. 10, n. 1, p. 5785, Apr. 2020. doi: 10.1038/s41598-020-62593-9.
131. SILVA, B. R. et al. Functional haplotype in the interleukin8 (CXCL8) gene is associated with type 2 Diabetes Mellitus and periodontitis in brazilian population. **Diabetes Metab. Syndr.**, Amsterdam (Netherlands), v. 14, n. 6, p. 1665-1672, Nov.-Dec. 2020. doi: 10.1016/j.dsx.2020.08.036.
132. SINGH, B.; ANBALAGAN, S.; SELVARAJ, P. Regulatory role of CCL5 (rs2280789) and CXCL10 (rs56061981) gene polymorphisms on intracellular CCL5 and CXCL10 expression in pulmonar tuberculosis. **Hum. Immunol.**, New York (United States), v. 78, n. 5-6, p. 430-434, May-June 2017. doi: 10.1016/j.humimm.2017.03.008.
133. SINGH, P. et al. Significance of CCL2(-2518A/G), CCR2 (190G/A) and TLR4 polymorphisms (896A/G and 1196C/T) in tuberculosis risk in indian population. **Meta Gene**, Amsterdam (Netherlands), v. 18, p. 184-190, Dec. 2018. doi: org/10.1016/j.mgene.2018.09.008.
134. SINGH, R. et al. Residual immune activation in HIV-infected individuals expands monocytic-mieloid derived suppressor cells. **Cell Immunol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 362, p. 104304, Apr. 2021. doi: 10.1016/j.cellimm.2021.104304.
135. SOARES, H. D. et al. Plasma biomarkers associated with the apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. **Arch. Neurol.**, Chicago (United States), v. 69, n. 10, p. 1310-1317, Oct. 2012. doi: 10.1001/archneurol.2012.1070.
136. STAMATOVIC, S. M. et al. A novel approach to treatment of thromboembolic stroke in mice: redirecting neutrophils toward a peripherally implanted CXCL1-soaked sponge. **Exp. Neurol.**, New York (United States), v. 330, p. 113336, Aug. 2020. doi: 10.1016/j.expneurol.2020.113336.
137. STOLER-BARAK, L.; SHULMAN, Z. The path of the T-bet-ian CD8<sup>+</sup> T cells. **Nat. Immunol.**, New York (United States), v. 22, n. 4, p. 402-403, Apr. 2021. doi: 10.1038/s41590-021-00905-5.
138. SU, L. et al. Kupffer cell-derived TNF- $\alpha$  promotes hepatocytes to produce CXCL1 and mobilize neutrophils in response to necrotic cells. **Cell Death Dis.**, London (England), v. 9, n. 3, p. 323, Feb. 2018. doi: 10.1038/s41419-018-0377-4.
139. SUGIYAMA, M. et al. Serum CCL17 level becomes a predictive marker to distinguish between mild/moderate and severe/critical disease in patients with COVID-19. **Gene**, Amsterdam (Netherlands), v. 766, p. 145145, Jan. 2021. doi: 10.1016/j.gene.2020.145145.
140. SUNDARAM, K. et al. CXCL5 stimulation of RANK ligand expression in Paget's disease of bone. **Lab. Invest.**, New York (United States), v. 93, n. 4, p. 472-479, Apr. 2013. doi: 10.1038/labinvest.2013.5.
141. TAKI, F. et al. Maternal programming of social dominance via milk cytokines. **iScience**, Cambridge (United States), v. 23, n. 8, p. 101357, Aug. 2020. doi: 10.1016/j.isci.2020.101357.
142. TOHYAMA, M. et al. Suppression of IL-17A-induced CCL20 production by cytokine inducible SH2-containing protein 1 in epidermal keratinocytes. **J. Dermatol. Sci.**, Amsterdam (Netherlands), v. 101, n. 3, p. 202-209, Mar. 2021. doi: 10.1016/j.jdermsci.2021.01.005.
143. TOMITA, K. et al. CXCL10-mediate macrophage, but not other innate immune cells-associated inflammation in murine nonalcoholic steatohepatitis. **Sci. Rep.**, London (England), v. 6, p. 28786, June 2016. doi: 10.1038/srep28786.
144. TULIC, M. K. et al. Innate lymphocyte-induced CXCR3B-mediated melanocyte apoptosis is a potential initiator of T-cell autoreactivity in vitiligo. **Nat. Commun.**, London (England), v. 10, n. 1, p. 2178, May 2019. doi: 10.1038/s41467-019-09963-8.
145. TYNER, J. W. et al. CCL5-CCR5 interaction provides antiapoptotic signals for macrophage survival during viral infection. **Nat. Med.**, New York (United States), v. 11, n. 11, p. 1180-1187, Nov. 2005. doi: 10.1038/nm1303.

146. VILLARREAL-PONCE, A. et al. Keratinocyte-macrophage crosstalk by the Nrf2/Ccl2/EGF signaling axis orchestrates tissue repair. **Cell Rep.**, Cambridge (United States), v. 33, n. 8, p. 108417, Nov. 2020. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108417.
147. VILLEDA, S. A. et al. The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function. **Nature**, London (England), v. 477, n. 7362, p. 90-94, Aug. 2011. doi: 10.1038/nature10357.
148. WANG, C.-C. et al. The impact of cytokine change after hepatitis C virus clearance by direct antiviral agents on the risk of hepatocellular carcinoma. **J. Formos. Med. Assoc.**, Singapore (Singapore), v. 20, n. 3, p. 965-973, Mar. 2021. doi: 10.1016/j.jfma.2020.10.015.
149. WINTER, C. et al. Chrono-pharmacological targeting of the CCL2-CCR2 axis ameliorates atherosclerosis. **Cell Metab.**, Cambridge (United States), v. 28, n. 1, p. 178-182e5, July 2018. doi: 10.1016/j.cmet.2018.05.002.
150. WU, X.-B. et al. Chemokine receptor CCR2 contributes to neuropathic pain and the associated depression via increasing NR2B-mediated currents in both D1 and D2 dopamine receptor-containing medium spiny neurons in the nucleus accumbens shell. **Neuropsychopharmacology**, London (England), v. 43, n. 11, p. 2320-2330, Oct. 2018. doi: 10.1038/s41386-018-0115-8.
151. WU, X.-B. et al. Spinal CXCL9 and CXCL11 are not involved in neuropathic pain despite an upregulation in the spinal cord following spinal nerve injury. **Mol. Pain**, Thousand Oaks (United States), v. 14, p. 1744806918777401, Jan.-Dec. 2018. doi: 10.1177/1744806918777401.
152. XIAN, H. et al. CCL2-CCR2 axis potentiates NMDA receptor signaling to aggravate neuropathic pain induced by brachial plexus avulsion. **Neuroscience**, Oxford (England), v. 425 p. 29-38, Jan. 2020. doi: 10.1016/j.neuroscience.2019.11.012.
153. XU, Z. et al. Association of CCL2 gene variants with osteoarthritis. **Arch. Med. Res.**, New York (United States), v. 50, n. 3, p. 86-90, Apr. 2019. doi: 10.1016/j.arcmed.2019.05.014.
154. YANG, D.-W. et al. Inhibition of microRNA-495 suppresses chondrocyte apoptosis through activation of the NF- $\kappa$ B signaling pathway by regulating CCL4 in osteoarthritis. **Gene Ther.**, Houndmills (England), v. 26, n. 6, p. 217-229, June 2019. doi: 10.1038/s41434-019-0068-5.
155. YAO, Y. et al. Genetic variants in chemokine CC subfamily genes influence hepatitis C virus viral clearance. **J. Hum. Genet.**, London (England), v. 63, n. 7, p. 831-839, July 2018. doi: 10.1038/s10038-018-0452-9.
156. YEREGUI, E. et al. High circulating SDF-1 and MCP-1 levels and genetic variations in CXCL12, CCL2 and CCR5: prognostic signature of immune recovery status in treated HIV-positive patients. **EBioMedicine**, Amsterdam (Netherlands), v. 62, p. 103077, Dec. 2020. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.103077.
157. YIN, X. et al. The combination of CXCL9, CXCL10 and CXCL11 levels during primary HIV infection predicts HIV disease progression. **J. Transl. Med.**, London (England), v. 17, n. 1, p. 417, Dec. 2019. doi: 10.1186/s12967-019-02172-3.
158. YU, X. et al. Synergistic induction of CCL5, CXCL9 and CXCL10 by IFN- $\gamma$  and NLRs ligands on human fibroblast-like synoviocytes - a potential immunopathological mechanism for joint inflammation in rheumatoid arthritis. **Int. Immunopharmacol.**, Amsterdam (Netherlands), v. 82, p. 106356, Mar. 2020. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106356.
159. ZHANG, L. et al. Circulating CCL20: a potential biomarker for active vitiligo together with the number of Th1/17 cells. **J. Dermatol. Sci.**, Amsterdam (Netherlands), v. 93, n. 2, p. 92-100, Feb. 2019. doi: 10.1016/j.jdermsci.2018.12.005.
160. ZHANG, L. et al. Potential chemokine biomarkers associated with PTSD onset, risk and resilience as well as stress responses in US military service members. **Transl. Psychiatry**, New York (United States), v. 10, n. 1, p. 31, Jan. 2020. doi: 10.1038/s41398-020-0693-1.
161. ZHANG, N. et al. Type 1 T-cell responses in chlamydial lung infections are associated with local MIP-1 $\alpha$  response. **Cell Mol. Immunol.**, Beijing (China), v. 7, n. 5, p. 355-360, Sept. 2010. doi: 10.1038/cmi.2010.32.
162. ZHAO, W. et al. Characterization of gene expression phenotype in amyotrophic lateral sclerosis monocytes. **JAMA Neurol.**, Chigaco (United States), v. 74, n. 6, p. 677-685, June 2017. doi: 10.1001/jamaneurol.2017.0357.
163. ZHU, J. et al. EGF-like ligands stimulate osteoclastogenesis by regulating expression of osteoclast regulatory factors by osteoblasts: implications for osteolytic bone metastases. **J. Biol. Chem.**, Baltimore (United States), v. 282, n. 37, p. 26656-26665, Sept. 2007. doi: 10.1074/jbc.M705064200.
164. ZHU, Y. et al. CXCL8 chemokine in ulcerative colitis. **Biomed. Pharmacother.**, New York (United States), v. 138, p. 111427, June 2021. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111427.
165. ZONDERVAN, K. T.; BECKER, C. M.; MISSMER, S. A. Endometriosis. **N. Engl. J. Med.**, Boston (United States), v. 382, n. 13, p. 1244-1256, Mar. 2020. doi: 10.1056/NEJMra1810764.
166. ZWEIFEL, M. et al. Eotaxin/CCL11 levels correlate with myocardial fibrosis and mast cell density in native and transplanted rat hearts. **Transplant. Proc.**, New York (United States), v. 42, n. 7, p. 2763-2766, Sept. 2010. doi: 10.1016/j.transproceed.2010.05.152.