
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

AGRIMALDO MARTINS FILHO

CITOCINAS E ÓXIDO NÍTRICO INTRACÍSTICO EM NEOPLASIAS OVARIANAS

UBERABA

2017

Agrimaldo Martins Filho

Citocinas e Óxido Nítrico Intracístico em Neoplasias Ovarianas

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, área de concentração em Patologia Humana, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção de título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Rosekeila Simões

Nomelini

Coorientador: Prof. Dr. Eddie Fernando

Candido Murta

Uberaba

2017

“A ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus. Quando considero quantas e quão maravilhosas são as coisas que o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, me faz reconhecer claramente que o espírito humano é a obra mais notável de Deus.”

Galileu Galilei



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ATESTADO DE APROVAÇÃO

Uberaba, 22 de agosto de 2017.

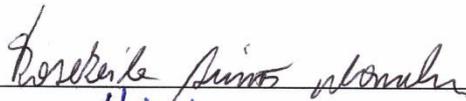
Defesa de tese e exame final de **AGRIMALDO MARTINS FILHO**,
candidato (a) ao grau de Doutor (a) em Ciências – Patologia Humana.

A Comissão Examinadora comunica à Coordenadoria do PGCS/UFTM,
para os devidos fins, que procedeu, nesta data, ao exame da Tese de Doutorado
“**CITOCINAS E ÓXIDO NÍTRICO INTRACÍSTICO EM NEOPLASIAS
OVARIANAS**” do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, bem como ao
exame final.

O (a) candidato (a) foi considerado (a) APROVADO.

A COMISSÃO:

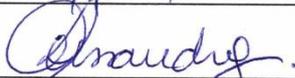
Dra. Rosekeila Simões Nomelini



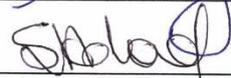
Dr. Hélio Humberto Angotti Carrara



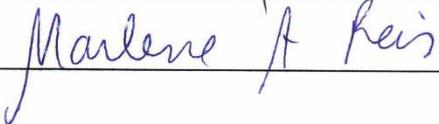
Dra. Alessandra da Cunha



Dra. Sheila Jorge Adad



Dra. Marlene Antônia dos Reis





A Deus,

Pela vida, pela força e garra e por estar sempre comigo, iluminando cada momento e dando sabedoria e discernimento para optar, coragem para lutar e perseverança para vencer.

“Quanto eu esperei e ansioso queria te ver.

SENHOR, hoje quero rasgar o meu viver e te mostrar meu coração, tudo o que tenho e sou.

Sei que nada sou, mas eu sei que o amor que o Senhor tem por mim é muito mais que o meu.

Sei quanto tempo também o Senhor me esperou e a me ver na estrada ao longe voltar,

Não me perguntou nem por onde eu andei, dos bens que eu gastei,

Mas olhando em meus olhos me acolheu num abraço de pai”

(Adriana Arydes)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, especialmente:

Ao meu pai Agrinaldo, pelo afeto, pelo amor incondicional, pelas lições, pela dedicação e companheirismo e por ter acreditado em meus sonhos apoiando-me sempre com toda confiança. Obrigado pai por ter me ensinado a viver com dignidade e caráter.

A minha mãe Maria Ildine que mesmo partindo antes que esse momento chegasse, deixou uma saudade imensa, mas mesmo não estando fisicamente entre nós, a sua alma viva de amor, amizade e exemplo de pessoa é o que me impulsiona adiante, incentivando-me a ser uma pessoa melhor a cada dia e capaz de lutar pelos meus sonhos.

A minha madrastra Magda, pelo incentivo a realização de meus sonhos, pela preocupação e carinho e por desempenhar o papel de mãe cuidando e zelando por mim como se fosse um filho gerado.

Aos meus irmãos e familiares, pelo apoio, pelo amor e confiança, pelos bons momentos que passamos juntos e pelos conselhos e risos que me proporcionaram.

A Professora Rosekeila, pela orientação e dedicação que me foi depositada, por demonstrar paciência e com disposição durante toda a construção desse trabalho e por estar sempre disposta a ensinar e mostrar o caminho certo e correto, solucionando dúvidas e vieses que por ventura surgiram no decorrer do caminho.

Ao Professor Eddie Fernando Murta, pela coorientação da tese, pela disponibilidade e pela amizade demonstrada desde o início do trabalho.

A amiga Millena, pelo apoio, compreensão e ajuda em todas as etapas da construção deste trabalho e por estar comigo sempre, demonstrando sua total amizade.

Aos meus amigos, por estarem sempre comigo, pelos conselhos, pela companhia e amizade, principalmente a Marília Silva que se fez presente vivamente nesses últimos anos.

A Professora Renata Margarida Etchebehere, pela atenção, pela colaboração e por apresentar-se sempre disposta a ajudar e pela imensa contribuição ao ensino.

A Professora Beatriz Martins Tavares Murta, por disponibilizar todos os recursos da Disciplina de Farmacologia.

A professora Márcia Antoniazi Michelin, pela atenção aos estudos, pela disposição e pela abertura aos recursos do Instituto de Pesquisa em Oncologia – IPON.

Aos professores do curso de Pós-Graduação, pela contribuição e apoio ao ensino.

Ao Douglas Côbo Micheli e ao Januário Barbosa dos Santos, pelo auxílio no processamento de materiais biológicos e armazenamento dos mesmos.

Aos funcionários do Departamento de Patologia Cirúrgica, pelo apoio técnico, pela atenção e disposição e principalmente pela amizade.

Aos funcionários do IPON, pelo amparo e auxílio nos procedimentos e pela amizade.

Aos funcionários do Ambulatório de Oncologia Ginecológica e Mastologia, as Secretárias da Disciplina de Ginecologia e Obstetrícia, pela atenção e disposição.

Aos funcionários do Setor de Arquivamento de Prontuários, pela atenção, pela disposição e apoio.

À equipe de enfermagem, em especial a enfermeira Jaqueline, pelo apoio e ajuda nas coletas.

Ao Dr. Paulo Maluf e ao Dr. Marco Aurélio Trovó, pela paciência e auxílio durante a coleta do material nas cirurgias no bloco cirúrgico.

Aos residentes da Disciplina de Ginecologia e Obstetrícia e aos alunos da graduação em Medicina, pela paciência e apoio nas cirurgias e na coleta de material no bloco cirúrgico.

As pacientes, pela participação e contribuição deste trabalho, pois sem elas nada teria se feito e provido.

À Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), onde foi realizado este trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e a Fundação de Ensino e Pesquisa de Uberaba (FUNEPU), pelo apoio financeiro.

Muito obrigado!!!

RESUMO

INTRODUÇÃO: O câncer ovariano ainda representa um grande desafio para a oncologia ginecológica e a maioria das pacientes são diagnosticadas em um estágio avançado. É uma doença heterogênea e muitos estudos indicam que a inflamação crônica é um dos mecanismos centrais na sua patogênese. Há uma necessidade no desenvolvimento de novos biomarcadores de diagnóstico e prognóstico do câncer ovariano, que podem também, idealmente, servir como alvos de novas modalidades terapêuticas. Para isso, nossos objetivos foram comparar a dosagem de citocinas (IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- α) e metabólitos de óxido nítrico (NO) no líquido intracístico de tumores não neoplásicos, neoplasias benignas e malignas primárias de ovário; e relacionar a dosagem de citocinas e metabólitos de NO intracístico com parâmetros clínicos, laboratoriais e patológicos de pacientes com neoplasia maligna primária de ovário.

PACIENTES E MÉTODOS: Foram avaliadas 110 pacientes com diagnóstico de massa anexial. O critério de inclusão foi diagnóstico pós-operatório de tumor não neoplásico ovariano ou neoplasia ovariana pelo anatomopatológico em parafina. A avaliação anatomopatológica e o estadiamento dos casos foram realizados de acordo com os critérios da International Federation of Gynaecology and Obstetrics – FIGO. Todos os tumores ovarianos foram submetidos à punção logo após a exérese da massa anexial. As concentrações de IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- α foram quantificadas por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA) e a quantificação do nitrato foi determinada por meio da redução enzimática do nitrito com a nitrato redutase. Os Resultados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, com pós-teste de Dunn. A avaliação dos fatores prognósticos foi realizada pelo teste de Mann Whitney. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS: Houve aumento dos níveis de IL-6, e IL-8 e NO no grupo de neoplasias malignas de ovário quando comparadas com o grupo de neoplasias benignas ($p = 0,0006$; $p = 0,0110$ e $p = 0,0178$, respectivamente). Houve níveis mais elevados de IL-2 nos tumores com grau histológico 1 quando comparados com grau histológico 2 e 3 ($p = 0,0232$). Níveis de IL-8 foram mais altos em pacientes com Relação Neutrófilo/Linfócito (RNL) maior que 2.6 ($p = 0,0433$) e em pacientes com sobrevida livre da doença menor que 36 meses ($p = 0,0288$). Os níveis de IL-10 foram mais altos em pacientes com dosagens de CA19.9 normais ($p = 0,0019$). Os níveis de TNF- α foram mais altos em tumores com modelo de carcinogênese do tipo 2 ($p = 0,0364$) e em pacientes com Relação Plaquetas/Linfócitos (RPL) menor que 300 (p

= 0,0420). Os níveis de NO foram mais elevados em pacientes com RNL menor que 2.6 ($p = 0,0443$), assim como em pacientes com CA19.9 maior que 35U/mL ($p = 0,0112$).

CONCLUSÃO: O aumento dos valores intracísticos de algumas citocinas podem estar associados com o pior prognóstico no câncer ovariano, especialmente IL-6 e IL-8. Novos estudos com maior amostra de pacientes são necessários para confirmar o papel das citocinas como um fator de diagnóstico e prognóstico no câncer ovariano.

PALAVRAS-CHAVE: Citocinas. Oxido nítrico. Fatores prognósticos. Neoplasias ovarianas.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Ovarian cancer still represents a major challenge for oncology gynecology and most patients are diagnosed at an advanced stage. It is a heterogeneous disease and many studies indicate that chronic inflammation is one of the main mechanisms in its pathogenesis. There is a need for the development of new biomarkers for the diagnosis and prognosis of ovarian cancer, which may ideally serve as targets for new therapeutic modalities. For this, our objectives were to compare the dosage of cytokines (IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α) and nitric oxide (NO) metabolites in non-neoplastic tumors, benign neoplasms and malignant primary ovarian neoplasms; and to relate the dosage of cytokines and intracellular NO metabolites with clinical, laboratory and pathological parameters of patients with primary ovarian malignancy.

PATIENTS AND METHODS: We assessed 110 patients with an adnexal mass diagnosis. The inclusion criterion was a postoperative diagnosis of a non-neoplastic ovarian tumor or ovarian neoplasm by anatomopathological paraffin. The anatomopathological evaluation of tumors and the staging of the malignant tumors were performed according to the criteria of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics - FIGO. All ovarian tumors underwent puncture soon after excision of the cyst. The concentrations of IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α were quantified by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and nitrate quantification determined by enzymatic reduction of nitrite by nitrate reductase. The results were analyzed by Kruskal-Wallis test, with Dunn's post-test. The evaluation of the prognostic factors was performed by Mann Whitney test. A p-value < 0.05 was considered statistically significant.

RESULTS: There was higher IL-6, IL-8 and NO levels in the ovarian malignancy group when compared to the benign neoplasm group (p = 0.0006; p = 0.0110 and p = 0.0178, respectively). There was higher IL-2 levels in tumors with histological grade 1 when compared to histological grades 2 and 3 (p = 0.0112). IL-6 levels were higher in patients with anemia (p = 0.0232). IL-8 levels were higher in patients with the Neutrophil/Lymphocyte Ratio (NLR) greater than 2.6 (p = 0.0443), and in patients with disease-free survival less than 36 months (p = 0.0288). IL-10 levels were higher in patients with normal CA 19.9 (p = 0.0019). TNF- α levels were higher in tumors with Type 2 carcinogenesis model (p = 0.0364), and in patients with Platelet/Lymphocyte Ratio (PLR) less than 300 (p = 0.0420). NO levels were higher in patients with NLR less than 2.6 (p = 0.0443), as well as in patients with CA 19.9 greater than 35 U/mL (p = 0.0112).

CONCLUSION: Higher intracystic values of some cytokines are associated with worse prognostic factors in ovarian cancer, especially IL-6 and IL-8. Further studies with a larger sample of patients are needed to confirm the role of cytokines as diagnostic and prognostic factors.

KEY-WORDS: Cytokines. Nitric oxide. Prognostic factors. Ovarian neoplasms.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Frequência (%) dos estadiamentos no grupo de pacientes com Neoplasias Malignas de Ovário de acordo com a Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO)	64
Figura 2 -	Grau de diferenciação histológica das neoplasias malignas	65
Figura 3 -	Tipo de Carcinogênese das neoplasias ovarianas malignas epiteliais	66
Figura 4 -	Diferenças na quantificação dos metabólitos do NO (NO ₂₊ + NO ₃) pela reação de <i>Griess</i> entre os tumores não neoplásicos, neoplasia benigna e maligna de ovário. Os valores foram expressos em mediana e percentis (10%, 25%, 75% e 90%)	67
Figura 5 -	Diferenças na quantificação das citocinas pelo método de ELISA entre os tumores não neoplásicos, neoplasia benigna e maligna de ovário. Os valores foram expressos em mediana e percentis (10%, 25%, 75% e 90%)	68
Figura 6 -	Relação de NO (NO ₂₊ + NO ₃) (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney)	71
Figura 7 -	Relação de IL-2 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney)	72
Figura 8 -	Relação de IL-5 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney)	73
Figura 9 -	Relação de IL-6 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney)	74
Figura 10 -	Relação de IL-8 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney)	75
Figura 11 -	Relação de IL-10 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney)	76
Figura 12 -	Relação de TNF- α (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de	

	ovário (Teste Mann Whitney)	77
Figura 13 -	Relação de NO (NO ₂ + + NO ₃) (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney)	80
Figura 14 -	Relação de IL-2 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney)	81
Figura 15 -	Relação de IL-5 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney)	82
Figura 16 -	Relação de IL-6 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney)	83
Figura 17 -	Relação de IL-8 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney)	84
Figura 18 -	Relação de IL-10 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney)	85
Figura 19 -	Relação de TNF- α (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney)	86

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 -	Caraterísticas das neoplasias benignas e malignas	23
Quadro 2 -	Características macroscópicas de benignidade e malignidade dos tumores ovarianos	27
Quadro 3 -	Estadiamento cirúrgico FIGO do câncer ovariano segundo a FIGO	35
Tabela 1 -	Variáveis quantitativas expressas em mediana (mínimo-máximo) das pacientes com tumores ovarianos atendidas no Hospital das Clínicas da UFTM, Uberaba – MG, no período de 2009 a 2016	61
Tabela 2 -	Variáveis qualitativas das pacientes com tumores ovarianos, atendidas no Hospital das Clínicas da UFTM, Uberaba – MG, no período de 2009 a 2016	62
Tabela 3 -	Diagnóstico Histológico dos tumores das pacientes com cistos não neoplásicos (n=17), atendidas no Hospital das Clínicas da UFTM, Uberaba – MG	63
Tabela 4 -	Diagnóstico Histológico dos tumores das pacientes com Neoplasia Ovariana Benigna (n=72), atendidas no Hospital das Clínicas da UFTM, Uberaba – MG	63
Tabela 5 -	Diagnóstico Histológico dos tumores das pacientes com Neoplasia Ovariana Maligna (n=22), atendidas no Hospital das Clínicas da UFTM, Uberaba – MG	63
Tabela 6 -	Diferenças na quantificação dos metabólitos do NO (NO ₂₊ + NO ₃) pela reação de <i>Griess</i> e das citocinas pelo método de ELISA e entre os tumores não neoplásicos, neoplasia benigna e maligna de ovário	67
Tabela 7 -	Relação dos metabólitos do NO (NO ₂₊ + NO ₃) e das citocinas e fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário	70
Tabela 8 -	Relação dos metabolitos de NO (NO ₂₊ + NO ₃) e das citocinas com os fatores prognósticos laboratoriais das neoplasias malignas de ovário	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas

BSA: soro albumina bovina

BRCA1: gene supressor de tumor breast cancer 1

BRCA2: gene supressor de tumor breast cancer 2

°C: Grau Celsius

Ca²⁺: íon cálcio

CA-125: antígeno do câncer ovariano 125

CA-15.3: antígeno do câncer ovariano 15.3

CA-19.9: antígeno do câncer ovariano 19.9

CD: cluster of differentiation

CEA: antígeno carcinoembrionário

Cm: centímetro

dL: decilitro

EDRF: fator de relaxamento derivado do endotélio

ELISA: ensaio imunoenzimático

FAD: flavina adenina dinucleotídeo

FIGO: Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia

GM-CSF: fator de estimulação de colônias de granulócitos-macrófagos

IFN- β : interferon beta

IFN- γ : interferon gama

IgA: imunoglobulina tipo A

IgE: imunoglobulina tipo E

IL: interleucina

IL-1: interleucina 1

IL-2: interleucina 2

IL-3: interleucina 3

IL-4: interleucina 4

IL-5: interleucina 5

IL-6: interleucina 6

IL-8: interleucina 8

IL-10: interleucina 10

IL-11: interleucina 11

IL-12: interleucina 12
IL-16: interleucina 16
IL-17: interleucina 17
IL-18: interleucina 18
IOTA: International Ovarian Tumor Analysis
IPON: Instituto de Pesquisa em Oncologia
IR: índice de resistência
kD: quilodaltos
LPS: lipopolissacarídeo
LR1: Regressão logística 1
LR2: Regressão logística 2
M: Mol
Mg: miligrama
MHC: complexo principal de histocompatibilidade
NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NK: linfócito natural killer
NKT: linfócito T natural killer
mL: mililitro
mM: milimol
mRNA: ácido ribonucleico mensageiro
nm: nanometro
NO: óxido nítrico
NOS: sintase de óxido nítrico
NOSc: sintase de óxido nítrico constitutiva
NOSe: sintase de óxido nítrico endotelial
NOSi: sintase de óxido nítrico induzida
NOSn: sintase de óxido nítrico neural
OMS: Organização Mundial da Saúde
p53: proteína citoplasmática 53
PAF: fator de ativação plaquetária
PBS: solução salina tamponada com fosfato
PCR: proteína C reativa
PGE2: prostaglandina E2
pH: potencial de hidrogênio

NBR: resolução brasileira de normas
RMI: risco de índice de maligno
RNA: ácido ribonucleico
RNL: relação neutrófilo/linfócito
RPL: relação plaqueta/linfócito
rpm: rotação por minuto
RT-PCR: reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa
SG: sobrevivida global
SLD: sobrevivida livre da doença
sIL-2: receptor solúvel de interleucina 2
sTNF-R: forma solúvel de receptores de membrana para TNF
TAL: linfócitos associados ao tumor
TAM: células mononucleares associadas ao tumor
TC: tomografia computadorizada
TGF: fator de transformação do crescimento
TGF- β 1: fator de transformação do crescimento beta 1
Th1: linfócito T helper 1
Th2: linfócito T helper 2
TIL: linfócitos infiltrantes ao tumor
TNF: fator de necrose tumoral
TNF-R: receptores de superfície de membrana para TNF
TNF- α : fator de necrose tumoral alfa
TNF- β : fator de necrose tumoral beta
Treg: células T reguladoras
UFTM: Universidade Federal do Triângulo Mineiro
UI: Unidade Internacional
 μ L: microlitro
 μ m: micrômetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
1.1	NEOPLASIA OVARIANA	24
1.1.1	História e Progressão Natural do Câncer Ovariano	28
1.2.2	Métodos de Diagnóstico e Tratamento das Massas Ovarianas	31
1.2.3	Fatores Prognósticos do Câncer ovariano	37
1.2	O SISTEMA IMUNE NO CÂNCER OVARIANO	39
1.2.1	Células do Sistema Imune	40
1.2.1.1	<i>Linfócitos T</i>	41
1.2.1.1.1	Linfócitos T Natural Killers (NKT)	42
1.2.1.2	<i>Linfócitos Natural Killers (NK)</i>	42
1.2.1.3	<i>Macrófagos</i>	43
1.2.2	Citocinas	43
1.2.2.1	<i>Interleucina 2 (IL-2)</i>	45
1.2.2.2	<i>Interleucina 5 (IL-5)</i>	46
1.2.2.3	<i>Interleucina 6 (IL-6)</i>	46
1.2.2.4	<i>Interleucina 8 (IL-8)</i>	47
1.2.2.5	<i>Interleucina 10 (IL-10)</i>	47
1.2.2.6	<i>Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF-α)</i>	48
1.3	ÓXIDO NÍTRICO	49
2	HIPÓTESE	52
3	OBJETIVOS	53
4	PACIENTES E MÉTODOS	54
4.1	PACIENTES	54
4.1.1	Dados avaliados	54
4.1.2	Crítérios de Indicação de Laparotomia Exploradora	55
4.1.3	Crítério de Inclusão	55
4.1.4	Crítério de Exclusão	55
4.2	MÉTODOS	56
4.2.1	Modelo de Estudo	56
4.2.2	Anatomopatológico	56
4.2.3	Coleta do Líquido Intracístico	57

4.2.4	Ensaio Imunoenzimático (ELISA) para a Dosagem das Citocinas	57
4.2.5	Ensaio Colorimétrico para a Dosagem dos Metabólitos do Óxido Nítrico (NO)	58
4.2.6	Banco de Dados	58
4.2.7	Análise Estatística	58
4.2.8	Redação do Texto	59
5	RESULTADOS	60
5.1	CARACTERIZAÇÃO DAS PACIENTES	60
5.2	QUANTIFICAÇÕES DOS METABÓLITOS DE ÓXIDO NÍTRICO (NO ₂₊ + NO ₃) E DAS CITOCINAS (IL-2, IL-5, IL-8, IL-10 E TNF-α) NO LÍQUIDO INTRACÍSTICO DAS PACIENTES COM TUMORES NÃO NEOPLÁSICOS, NEOPLASIAS BENIGNAS E MALIGNAS DE OVÁRIO	66
5.3	RELAÇÕES DOS METABÓLITOS DO NO (NO ₂₊ + NO ₃) E DAS CITOCINAS (IL-2, IL-5, IL-8, IL-10 E TNF-α) COM OS FATORES PROGNÓSTICOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS DAS NEOPLASIAS MALIGNAS DE OVÁRIO	69
5.4	RELAÇÕES DOS METABÓLITOS DO NO (NO ₂₊ + NO ₃) E DAS CITOCINAS COM OS FATORES PROGNÓSTICOS LABORATORIAIS DAS NEOPLASIAS MALIGNAS DE OVÁRIO	78
6	DISCUSSÃO	87
7	CONCLUSÃO	96
	REFERÊNCIAS	97
	APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO E ESCLARECIMENTO	117
	APÊNDICE B – CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DOS TUMORES OVARIANOS SEGUNDO A OMS	118
	APÊNDICE C – TAMPÕES E REAGENTES PARA A DOSAGEM DOS METABÓLITOS DO NO – REAÇÃO DE GRIESS	123
	APÊNDICE D – CITOCINAS E ANTICORPOS	124
	ANEXO A – IDENTIFICAÇÃO DO GRUPO DE PACIENTES COM TUMORES NÃO NEOPLÁSICOS QUANTO A IDADE E AO TIPO TUMORAL .	125
	ANEXO B – IDENTIFICAÇÃO DO GRUPO DAS PACIENTES COM NEOPLASIA BENIGNA DE OVÁRIO QUANTO A IDADE E AO DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO	126

ANEXO C – IDENTIFICAÇÃO DO GRUPO DAS PACIENTES COM NEOPLASIA MALIGNA DE OVÁRIO QUANTO A IDADE E AO DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO	127
ANEXO D – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP; PARECER CONSUBSTANCIADO DE APROVAÇÃO DE PROJETO DE PESQUISA	128

1 INTRODUÇÃO

Já é conhecido que algumas lesões ou condições patológicas podem ser associadas a um maior risco de aparecimento de um câncer, tendo uma maior probabilidade de evoluir para um tecido canceroso comparado ao tecido normal onde ela se desenvolve. Essas lesões e condições pré-cancerosas nem sempre são fadadas a desenvolver um tumor maligno, mas sabemos que apresentam um potencial elevado e determinante na gênese do tumor. As neoplasias apresentam um papel importante nesse processo. Podemos conceituar neoplasia como sendo um conjunto de lesões que apresentam uma proliferação celular anormal, descontrolada e autônoma, na qual as células reduzem ou perdem a capacidade de se diferenciar em consequência de alterações nos genes reguladores do reparo do DNA e impedindo que estes regulem o crescimento e a diferenciação celular. As neoplasias, no ponto de vista clínico, podem ser divididas em duas grandes categorias: benignas e malignas (BOGLIOLO, 2011). As neoplasias benignas são caracterizadas por uma massa localizada de células que se multiplicam vagarosamente e se assemelham ao seu tecido original e raramente constituindo um risco de morte ao seu portador. Por outro lado, as neoplasias malignas são caracterizadas por massas celulares de crescimento rápido e desordenado. As células neoplásicas malignas apresentam características agressivas e incontroláveis, podendo invadir outros tecidos e órgãos e espalhar-se para outras regiões do corpo por metástases, provocando perturbações homeostáticas graves que podem levar o indivíduo a morte (BOGLIOLO, 2011; INCA, 2011). As características de diferenciação das neoplasias benignas e malignas podem ser vistas no Quadro 1.

Câncer ou neoplasia maligna é um termo genérico dado a um conjunto de mais de 100 doenças que apresentam em comum o crescimento anormal e descontrolado de células com grande capacidade de invadir outros tecidos e órgãos do corpo (INCA, 2011), resultante de alterações em genes que controlam o crescimento, a divisão e a morte celular do indivíduo. Qualquer célula do corpo pode se transformar e originar um tumor maligno, tornando-se capaz de se reproduzir e formando uma massa tumoral no local (YAMAGUCHI, 2002; SILVA, 2008). A origem da palavra câncer vem do grego *Karkinos* e do latim *Cancer*, ambos significando caranguejo, devido à semelhança da estrutura externa do tumor com as pernas do crustáceo. É uma doença antiga, existindo registro de sua presença desde os mais remotos anos da história da humanidade (SILVA, 2005).

As causas de câncer são variadas, podendo ser externas ou internas ao organismo e estarem ou não inter-relacionadas. As causas externas estão relacionadas aos fatores

ambientais e aos hábitos ou costumes do indivíduo. As causas internas são, na maioria das vezes, geneticamente pré-determinadas e podem estar associadas à capacidade do organismo de se defender das agressões externas. De todos os casos, 80% a 90% dos cânceres estão associados a fatores ambientais e somente 5% a 10% são hereditários. Sabe-se que fatores causais como a predisposição genética, irradiação e até mesmo alimentação contribuem para a formação de um câncer, porém nenhum desses elementos, por si só, fornecem uma explicação suficiente para o surgimento da doença. Esses fatores causais podem interagir de várias formas aumentando a probabilidade da célula normal se transformar em maligna (BRAGA, 2005; INCA, 2011).

Quadro 1 – Características das neoplasias benignas e malignas.

	Benignas	Malignas
Taxa de crescimento	Baixa	Alta
Figuras de mitose	Raras	Frequentes
Grau de diferenciação	Bem diferenciadas	Variáveis
Atipias celulares e arquiteturais	Raras	Frequentes
Degeneração e necrose	Ausentes	Presentes
Tipo de Crescimento	Expansivo	Infiltrativo
Cápsula	Presente	Geralmente ausente
Limite da lesão	Bem definidos	Imprecisos
Efeitos locais e sistêmicos	Geralmente inexpressivos	Geralmente importantes e às vezes letais
Recidiva	Em geral ausente	Presente
Metástase	Ausentes	Presente

Fonte: BOGLIOLO, 2011

A Agência Internacional de Investigação sobre o Câncer (IARC) estima que até 2030 possa haver aproximadamente 21,7 milhões de novos casos de câncer ao redor do mundo e uma estimativa de aproximadamente 13 milhões de mortes (SIEGEL, 2017). A estimativa para o Brasil, biênio 2016-2017, aponta a ocorrência de cerca de 600 mil casos novos de câncer e mais de 150 mil mortes pela doença (INCA, 2015), sendo hoje, a terceira maior causa de mortes na população brasileira, superada apenas pelas doenças cardiovasculares,

escancarando o topo da lista, seguida das mortes não naturais. Com o crescimento e aumento da idade da população, essa frequência tende a aumentar com o passar do tempo. Atualmente, o câncer no Brasil pode ser configurado como sendo um problema de saúde pública, pois está incluído entre as primeiras causas de morte em território nacional e, por isso, a implementação de políticas que incentivam os programas de prevenção é de grande valia para reduzir o número de novos casos e conseqüentemente os custos econômicos com o manejo e tratamento (INCA, 2011).

1.1 NEOPLASIA OVARIANA

Neoplasias ovarianas são frequentes na mulher e podem ser definidas como sendo uma doença caracterizada pelo crescimento anormal de células nos ovários, órgãos reprodutivos internos responsáveis pela produção dos óvulos. Dentre as neoplasias ovarianas, cerca de 80% dos casos são benignas, ocorrendo entre os 20 e 45 anos de idade. Já as neoplasias malignas são mais comuns a partir da quarta década de vida. A maioria das neoplasias ovarianas começa na camada exterior dos ovários, embora existam algumas que se desenvolvem a partir do tecido conjuntivo ovariano ou a partir das células que servem como precursoras para os óvulos (BOGLIOLO, 2011).

Historicamente, o primeiro relatório sobre câncer de ovário foi feito por Von Grafenberg em 1586 abrindo portas para o surgimento de técnicas de diagnósticos e procedimentos cirúrgicos para a intervenção da doença, mas a cirurgia de ooforectomia só se tornou prática aceita no final do século XIX (CIANFRANI, 1960). Atualmente, a frequência de câncer de ovário apresenta um número bem mais elevado quando comparado aos relatos de casos registrados no passado (WOODRUFF, 1979). As mudanças no número desses casos ainda não são atribuídas a uma melhor compreensão da doença, na melhoria das técnicas de diagnóstico ou no envelhecimento da população. As razões não são claras, mas é possível que o ambiente ou fatores sociais, tais como a diminuição do tamanho da família, menarca precoce, menopausa tardia e idade avançada desempenham um papel importante (MARSDEN & FRIEDLANDER, 2000), mostrando que a etiologia do câncer de ovário parece ser multifatorial, em que inclui fatores reprodutivos, familiares e pessoais (REIS, 2005). Cerca de 90% dos cânceres de ovário são esporádicos, isto é, não apresentam fator de risco reconhecido. Cerca de 10% apresentam um componente genético ou familiar. A história de câncer de ovário ou câncer de mama em parente de primeiro grau é considerada o principal fator de risco, embora apenas 5% das mulheres com a doença apresentam fatores genéticos

identificáveis (CANNISTRA, 2004). A história familiar é o fator de risco isolado mais importante (INCA, 2011).

Mesmo dispondo de uma vasta quantidade de pesquisa clínica e laboratorial, melhoria nas técnicas cirúrgicas e um arsenal cada vez maior de agentes quimioterápicos, o câncer de ovário ainda permanece sendo a malignidade ginecológica mais letal e uma das principais causas de morbidade para a maioria das pacientes que sofrem com a doença (MARSDEN & FRIEDLANDER, 2000). Infelizmente, hoje em dia, a maioria das pacientes ainda é diagnosticada em um estágio avançado da doença, esse fato está intimamente correlacionado com um mau prognóstico (CHO et al., 2009).

Como a maioria das pacientes é assintomática, muitas delas já apresentam diagnóstico tardio com presença de disseminação peritoneal extensa e metástases a distância (RICCI et al, 2008) e, em média, cerca de 70% (2/3) são diagnosticadas com estágio avançado (HOLSCHNEIDER & BEREK, 2000) fazendo com que o câncer ovariano seja considerado uma doença de alta letalidade e de rápida progressão. Para as pacientes diagnosticadas em estadiamento IA, as chances de cura podem chegar a 90% e para aquelas em estadiamento II o seu potencial de cura chega a 70%. Já para as pacientes diagnosticadas em estádios III e IV, os seus índices de cura alcançam apenas os 30%. Na maioria dos casos ocorre recidiva em 2 anos e algumas pacientes se tornam resistentes à quimioterapia fazendo com que sobrevida de 5 anos seja de apenas 45% na melhor das hipóteses (PYLVÄS-EEROLA et al., 2015). Nos tumores limitados à pelve, a sobrevida de 5 anos pode chegar a 60% dos casos (BREWER et al. 2003).

O câncer ovariano é o terceiro tipo de câncer ginecológico mais comum entre as mulheres (SIEGEL et al., 2017), depois do de mama e do de corpo uterino, é a principal causa de mortes por câncer na ginecologia (PARKIN & CRUICKSHANK, 2010; SIEGEL et al., 2017), ocupando o segundo lugar nas mortes por câncer e sendo responsável por mais mortes do que qualquer outro tipo de câncer do sistema reprodutor feminino (MARSDEN & FRIEDLANDER, 2000; SIEGEL et al., 2017). Mais mulheres morrem de câncer de ovário do que de todos os outros tumores ginecológicos juntos (HOLSCHNEIDER & BEREK, 2000) e o fato de ser considerada uma doença heterogênea, com diferentes tipos histológicos, contribui ainda mais para a dificuldade do seu diagnóstico e tratamento (KÖBEL et al, 2008; WATANABE et al., 2014).

Segundo os dados da Globocan (2012), a incidência mundial estimada de câncer de ovário foi de 238.719 novos casos diagnosticados e destes 151.917 morreram em decorrência da doença (FERLAY et al., 2012). A American Cancer Society estima que cerca de 22.440

mulheres receba um novo diagnóstico da doença nos Estados Unidos no ano 2017 e dessas mulheres, cerca de 14.080 morrerão da doença (SIEGEL et al., 2017). No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer (INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA, 2016) estimou que, para o ano de 2016, houve cerca de 6.150 casos e aproximadamente 3.283 mortes. O câncer do ovário é o sétimo mais incidente na maioria das regiões brasileiras (INCA, 2016). O risco de uma mulher de um país ocidental vir a desenvolver uma neoplasia ovariana é de cerca de 1:75 (MARSDEN & FRIEDLANDER, 2000), é mais comum em mulheres brancas do que em mulheres afrodescendentes (SIEGEL et al., 2017) e o pico de incidência da doença está em torno da sexta década de vida e a taxa de mortalidade em mulheres idosas é maior em comparação com mulheres mais jovens (OMURA et al., 1991; SIEGEL et al., 2017).

A classificação dos tumores ovarianos ainda apresenta controvérsias. Em 1993, a Organização Mundial da Saúde (OMS) lançou uma classificação (Apêndice B), na qual os tumores ovarianos primários eram agrupados, segundo o seu comportamento biológico e a sua histogênese, em 3 grupos: (1) Tumores epiteliais (65-70%); (2) Tumores de células germinativas (15-20%); e (3) Tumores dos cordões sexuais/estromais (5-10%). Essa classificação surgiu na tentativa de uniformizar a nomenclatura mundial e minimizar as dificuldades de fazer estudos comparativos entre as diferentes regiões do globo e permitir um melhor entendimento entre os especialistas (TAVASSOLI & DEVILEE, 2003; INCA, 2016). Estudos indicam que o câncer epitelial de ovário é o principal subtipo da doença e é responsável por mais de 50% de todos os tumores malignos ovarianos (GAVALAS et al, 2010).

Quanto ao potencial de malignidade, os tumores ovarianos podem ser divididos em benignos, malignos e de baixo potencial de malignidade, este ficando em regiões limítrofes histologicamente. A Organização Mundial de Saúde (OMS) o nomeou como tumor *borderline* (INCA, 2016). As características macroscópicas de benignidade e malignidade dos tumores ovarianos podem ser vistas no Quadro 2.

Quadro 2 – Características macroscópicas de benignidade e malignidade dos tumores ovarianos.

Benignas	Malignas
Unilaterais em cerca de 90% dos casos	Bilaterais em cerca de 60% dos casos
Cápsula íntegra	Cápsula rota
Geralmente móveis	Aderente, fixo
Superfície lisa	Superfície nodulosa, irregular
Geralmente sem ascite; quando existe, é citrina e clara	Frequentemente com ascite hemorrágica
Peritônio livre	Peritônio com implantes
Geralmente cístico, de parede lisa	Sólido, com áreas císticas; apresenta necrose e excrescências
Quando sólido tem consistência firme	Apresenta zonas amolecidas
Superfície de corte uniforme	Superfície variegada

Fonte: BOGLIOLO, 2011

Conforme o grau histológico, os tumores epiteliais ovarianos são divididos em 3 categorias de grau: (1) G1: bem diferenciado, (2) G2: moderadamente diferenciado e (3) G3: pouco diferenciado. Os tumores epiteliais pouco diferenciados são associados com o pior prognóstico (RICCI et al., 2008).

Partindo da premissa de que o câncer ovariano é uma doença heterogênea, com morfologia e comportamento biológico diferente, pesquisadores vêm buscando entender melhor a sua patogênese e identificar as suas lesões precursoras. Deste modo, recentemente, surgiu um estudo que propõe um modelo dualístico que agrupa os tumores epiteliais de ovário em duas categorias que levam em conta a sua natureza correlacionada aos seus aspectos clínicos, morfológicos, genéticos e moleculares. Neste modelo, os tumores ovarianos epiteliais são divididos em 2 grupos, designados por Tipo 1 e por Tipo 2 (SHIH & KURMAN, 2004; ALI-FEHMI et al, 2011; KURMAN & SHIH, 2011).

Os tumores ovarianos do tipo 1 são tumores de crescimento lento que podem se desenvolver a partir de lesões precursoras e representam de 20% a 30% dos tumores ovarianos. Nesta categoria incluem os tumores *borderline* serosos com padrão micropapilar, carcinomas serosos de baixo grau, endometrióides de baixo grau, carcinomas mucinosos e de células claras. Eles geralmente se apresentam como grandes massas císticas confinadas ao ovário, com um curso relativamente indolente, com diferentes graus de atipias. São

geneticamente estáveis, de bom prognóstico e, caracterizados por mutações em diversos genes. São responsáveis por 10% das mortes ligadas à doença (SHIH & KURMAN, 2004; KURMAN & SHIH, 2011; NIK et al. 2014).

Os tumores ovarianos do tipo 2 são tumores que crescem rapidamente e são altamente agressivos. Correspondem por 70% a 80% dos casos de câncer de ovário e são geralmente diagnosticados com estadiamento avançado, fato que contribui para a sua alta letalidade. Cerca de 80% apresenta mutação do gene p53 e são responsáveis por 90% das mortes. Dentro dessa categoria encontramos os carcinomas serosos de alto grau, endometrióides de alto grau, tumores indiferenciados e carcinossarcomas (KURMAN & SHIH, 2011; NIK et al. 2014).

Os ovários podem ser sítios frequentes de metástases, principalmente de tumores intestinais e mamários (tumores de Krukenberg) (RICCI et al., 2008).

1.1.1 História e Progressão Natural do Câncer Ovariano

A patogênese do câncer ovariano, bem como a sua história natural, são incertas. Dados demonstram que o câncer de ovário não apresenta uma lesão pré-invasiva bem definida (RICCI et al., 2008). Os tumores ovarianos iniciam seu desenvolvimento como um cisto dentro da cápsula do ovário (PIVER et al., 1978; RUBIN, 1992; MURTA et al., 1995), sendo este definido como uma entidade não invasiva que hospeda anormalidades genéticas (RICCI et al., 2008). Esses tumores crescem silenciosamente por um período de tempo desconhecido antes da capacidade de formação de metástases (PIVER et al., 1978; RUBIN, 1992; MURTA et al., 1995) fato que dificulta o estabelecimento de estratégias de prevenção dessa doença (RICCI et al., 2008)

Existem evidências consistentes a respeito do efeito protetor da multiparidade (TITUS-ERNSTOFF et al., 2001), do uso de contraceptivos orais (KURIAN et al., 2005), da amamentação, da menarca tardia e da menopausa precoce (NISIDA, 2000) na diminuição do surgimento de neoplasias malignas ovarianas. Por outro lado, a nuliparidade, a ausência de amamentação, a menarca precoce, a menopausa tardia, a presença de parentes de primeiro grau com câncer de ovário ou de mama (TOGASHI, 2003; VRABIE et al., 2008), o sobrepeso ou obesidade (FAIRFIELD et al., 2001; SCHOUTEN et al., 2008; DOTLIĆ et al., 2011), a terapia de reposição hormonal e o tabagismo são fatores fortemente ligados com o aumento do índice de desenvolvimento da doença, vigorando que a sua maior incidência ocorre em mulheres acima dos cinquenta anos de idade (VRABIE et al., 2008). As principais razões para a ocorrência do câncer ovariano ainda não estão claras (PYLVÄS-EEROLA et al.,

2015), mas tudo indica que esses fatores, protetores ou desencadeantes, estão em sua maioria relacionados com os episódios de ovulação, sugerindo que a ovulação desempenha um papel importante no surgimento do câncer ovariano.

Nos últimos anos, muitos estudiosos vêm tentando desvendar a origem da carcinogênese do câncer ovariano com o intuito de tentar explicar o seu surgimento e melhorar a compreensão sobre a doença. Em 1971, Fathalla (1971), tentando explicar essa origem, propõe que incessantes ovulações poderiam originar alterações genéticas nas células epiteliais da superfície do ovário em decorrência de microtraumas e injúrias de repetição. Essas células, geralmente, são quiescentes, mas proliferam rapidamente após a ovulação na tentativa de reparar o defeito criado pela liberação do oócito maduro no ovário (BREWER et al., 2003). Essa proliferação rápida pode contribuir para o acúmulo de defeitos genéticos nessas células e ainda somados a fatores de crescimento e citocinas, produzidos durante o processo de reparo da área lesada, levam a uma maior sobrevivência dessas células epiteliais com acúmulo de mutações (MURDOCH & MCSONNEL, 2002; RICCI et. al., 2008). As evidências sugerem que a ovulação cria rupturas na superfície do ovário, e o processo de cicatrização iniciado para reparar a área aumenta os níveis de mediadores inflamatórios e de espécies reativas de oxigênio, que podem contribuir ainda mais para o surgimento de mutações no DNA (MURDOCH & MARTINCHICK, 2004). Essas espécies reativas de oxigênio podem interagir diretamente com o DNA, oxidando as suas estruturas e aumentando de forma exponencial as chances de desenvolver mutações em suas cadeias (MURDOCH & MARTINCHICK, 2004; VALKO et al., 2004). Outro fato revela que as células superficiais do epitélio ovariano usufruem intimamente do contato com os hormônios esteróides sexuais produzidos pelo ovário (BREWER et al., 2003). Com o reparo crônico, após cada ovulação, associado à influência desses hormônios aumentaria a propensão dessas células sofrerem um processo de carcinogênese (RICCI et. al., 2008). Embora a associação entre a ovulação e o câncer ovariano seja bem aceita, o conhecimento sobre o seu real mecanismo biológico ainda é incerto (BREWER et al., 2003).

Em meados de 1978, Zajicek (1978) sugeriu que a inclusão cística epitelial na superfície do ovário poderia ser uma fonte de neoplasia. Muitos cânceres ovarianos se originam a partir de células dispostas nos cistos de inclusão localizados no epitélio superficial do córtex ovariano (SCULLY, 1995). Esses cistos de inclusão surgem após a ovulação, fazendo da ovulação um fator importante no seu desenvolvimento e, sugerindo que o epitélio superficial do ovário, provavelmente, seja o precursor da maioria dos cânceres do órgão (RICCI et. al., 2008). Foi demonstrado por alguns autores que a proliferação celular epitelial e

a transformação maligna dentro de invaginações epiteliais e cistos de inclusão podem ocorrer como resultado da exposição ao fluido folicular rico em estrógeno durante a ovulação, indicando que os estrógenos e a progesterona desempenham um papel importante na proliferação celular no carcinoma de ovário (CASAGRANDE et al., 1979; ORTH et al., 1994; BECHT & BONAVIDA, 2001). Por outro lado, recentes estudos genéticos, morfológicos e moleculares levaram a uma mudança de conceito em relação à carcinogênese e histogênese de alguns tumores ovarianos. Carcinomas serosos que tradicionalmente são classificados como de origem ovariana podem, na verdade, se originar a partir da porção distal da tuba uterina (LI et al., 2012; LILIAC et al., 2012). É justificável que quando o epitélio de superfície do ovário é rompido no processo de ovulação, as células epiteliais tubárias das fímbrias podem ser deslocadas e implantadas no ovário, no sítio de ruptura, e posteriormente formar um cisto de inclusão, onde, a partir daí, poderia originar um carcinoma seroso (PIEK et al., 2001; KURMAN & SHIH, 2010; KURMAN & SHIH, 2011). Portanto, a concepção clássica da patogenia do câncer de ovário baseada no papel do epitélio ovariano é atualmente reconsiderada, formulando uma nova hipótese que apoia o envolvimento direto das tubas uterinas na formação de tumores do tipo seroso (LI et al., 2012; LILIAC et al., 2012).

A predisposição hereditária é responsável por cerca de 10% dos casos de câncer ovariano. As mulheres que possuem mutações deletérias nos genes BRCA1 ou BRCA2 representam o subgrupo com maior risco de apresentar essa neoplasia (RICCI et al., 2008). Uma pequena porcentagem relaciona a síndrome de Lynch II com a predisposição no desenvolvimento do câncer ovariano (BHOOLA & HOSKINS, 2006).

Entre as mulheres com mutações de BRCA1 (cromossomo 17q21), o risco tende a aumentar pouco antes dos 40 anos e, ao longo da vida, entre 25% a 40% (SCHMELER et al., 2006). As mulheres portadoras de mutações no gene BRCA2 (cromossomo 13q12) também têm um importante risco de desenvolver câncer de ovário, cerca de 15% a 25%, embora esse risco não pareça aumentar significativamente antes de 50 anos de idade (SGO, 2005; SCHMELER et al., 2006).

Tanto BRCA1 como BRCA2 são genes supressores de tumores que são herdados de maneira autossômica dominante (CHOBANIAN & DIETRICH, 2008). Esses genes estão envolvidos na produção de proteínas responsáveis pela sinalização de danos e reparo no DNA, além de terem participação no monitoramento do ciclo celular e nos mecanismos de indução de apoptose (VENKITARAMAN, 2002; YOSHIDA & MIKI, 2004; BOULTON, 2006).

As mulheres acometidas por câncer de mama apresentam um risco aumentado para o aparecimento da doença (OMURA et al., 1991). A síndrome de câncer mama-ovário hereditária é a mais comum, representando 85% a 90% de todos os casos de câncer de ovário hereditários identificados (ROETT & EVANS, 2009).

Na síndrome de Lynch II, em que ocorre mutação no gene supressor tumoral p53, há ocorrência da associação de câncer colorretal sem polipose com câncer endometrial e ovariano. As pacientes com essa síndrome apresentam uma elevação de 50% no risco de câncer ovariano quando comparadas com a população em geral (RICCI, 2008).

O padrão de disseminação do câncer de ovário ocorre principalmente por 4 formas: (1) por continuidade; (2) por via linfática; (3) por disseminação hematogênica e por (4) descamação/esfoliação (BHOOLA & HOSKINS, 2006). Na primeira, o tumor invade a cápsula do ovário e, por contiguidade, acomete órgãos adjacentes, como útero, tuba uterina, bexiga e peritônio pélvico. Na segunda, as células tumorais atingem o sistema linfático, ocasionando o aparecimento de metástases em linfonodos das cadeias ilíaca externa, ilíaca comum, hipogástrica, sacral lateral e aórtica, podendo haver o envolvimento de linfonodos inguinais (WU et al., 1986; RICCI et. al., 2008). Na terceira, as células ganham a corrente sanguínea pela rede vascular tumoral e vão se alojar em órgãos distantes, principalmente, no parênquima hepático, cérebro e pulmões. É considerada a menos frequente (DEUTSCH et al., 1987; LEROUX et al., 1991; CORMIO et. al., 2003). Finalmente, na quarta, as células se descamam da superfície do tumor e são levadas pelo mecanismo de peristaltismo intestinal e reflexo gastroenterocólico e implantam-se na superfície serosa do omento, peritônio, diafragma, fígado e demais vísceras abdominais (RICCI et. al., 2008) e, além disso, podem passar através dos canais linfáticos do diafragma, chegando à cavidade pleural. A forma de disseminação por esfoliação é uma das vias mais importantes da disseminação tumoral (FELDMAN & KNAPP, 1974).

1.1.2 Métodos de Diagnóstico e Tratamento das Massas Ovarianas

O câncer de ovário configura um dos grandes desafios à medicina. Por ele não apresentar uma lesão e/ou quadro clínico bem específico, aproximadamente 2/3 de todos os tumores ovarianos malignos são diagnosticados em estádios mais avançados. Tal ocorrência deve-se ao fato de ser considerada uma doença heterogênea e multifatorial, com um desenvolvimento silencioso e sombrio, associada com a falta de estratégias bem estabelecidas destinadas ao seu rastreamento, contribui ainda mais para a dificuldade do seu

diagnóstico precoce e tratamento (KÖBEL et al, 2008; WATANABE et al., 2014). A prevenção é limitada pelo pouco conhecimento de suas causas e a ausência de biomarcadores sensíveis e específicos (ZHANG et al, 2003). Para a obtenção do diagnóstico da doença, assim como do seu estágio de desenvolvimento, são utilizados métodos propedêuticos que vão desde exames clínicos, laboratoriais e radiológicos, até a cirurgia com biópsia por congelação e parafina.

Os tumores ovarianos, em estádios iniciais, não produzem sintomas ou sinais clínicos que indicam a sua ocorrência. Os sintomas são pouco característicos e incluem dor abdominal, aumento do volume do abdome, alterações ou desconforto dos hábitos intestinal e urinário, irregularidade menstrual e sintomas pélvicos inespecíficos (GOFF et al., 2000; OLSON et al., 2001). Em casos mais avançados, as pacientes podem apresentar desconforto abdominal e sintomas respiratórios associados, devido ao aumento da pressão intra-abdominal e transudação de líquidos para a cavidade abdominal (ascite) e pleural. O sangramento uterino é um sintoma pouco comum, e ocorre quando o tumor é produtor de hormônio (RICCI et al, 2008).

O exame ginecológico, por meio de exame abdominal e de toque vaginal bimanual, assim como de toque retal, auxilia na elaboração da hipótese diagnóstica e na orientação para a solicitação de exames complementares (RICCI et al., 2008). Porém, a sensibilidade e a especificidade desse exame para o rastreamento de neoplasias ovarianas ainda são questionáveis (MURTA et al., 2004; PADILLA et al., 2005).

Os marcadores tumorais podem ser úteis no manejo de massas anexiais. Os marcadores CA-15.3, CA-125, CA-19.9 e CEA apresentam alta positividade tanto no soro quanto no fluido intracístico de pacientes com tumores ovarianos epiteliais malignos (CHERCHI et al., 2002; TAVARES-MURTA et al., 2004). Cerca de 80% das pacientes com câncer de ovário em estádios avançados e 50% daquelas com tumores em estágio inicial apresentam elevação dos níveis de CA-125 (STURGEON, 2002). Concentrações elevadas de CA-125 também podem ser encontradas em tumores de mama, pulmão e cólon (RICCI et al., 2008), indicando que esse marcador não pode ser considerado específico para essa doença quando avaliado isoladamente.

O principal exame de imagem utilizado no diagnóstico e na caracterização de tumores anexiais é a ultrassonografia pélvica pela via transvaginal, que pode ser associada ao *Color-Doppler* (RICCI et al., 2008). A ultrassonografia transvaginal associada com *Color-Doppler* pode aumentar a sua especificidade (GUERRIERO et al., 2005; SZPUREK et al., 2005), possibilitando a avaliação da condição vascular do tumor e o seu fluxo sanguíneo (RIVOIRE,

2006). Massas ou cistos complexos bem vascularizados, com índice de resistência (IR) inferior a 0,45, são suspeitos, embora tais dados, isoladamente, tenham pouca aplicabilidade (RICCI et al., 2008). A ultrassonografia pode ajudar no diagnóstico de tumores ovarianos e na diferenciação entre tumores neoplásicos e não neoplásicos (MINARETZIS et al., 1994; OSMERS et al., 1998), além de fornecer informações importantes, tais como o tamanho e conteúdo destes tumores, e pode ser usada para diferenciá-los entre malignos e benignos (NARASIMHAN, 2008). Porém, o diagnóstico precoce de câncer ovariano pela ultrassonografia ainda é controverso devido à sua baixa prevalência na população geral (FISHMAN et al., 2005), e também por ocorrerem falhas na detecção de tumores em estágio inicial (OLIVIER et al., 2006), dificultando o seu rastreamento. A associação de ultrassonografia e marcadores tumorais pode melhorar a sensibilidade e a especificidade do exame e funcionar como um fator preditivo de malignidade nas neoplasias ovarianas (MURTA et al., 2004). O uso da radiografia de tórax é útil para o rastreamento de metástases pulmonares e pleurais. A tomografia computadorizada (TC) e a ultrassonografia de abdome superior têm como finalidade descartar sítio e metástases linfonodais e retroperitoneais (RICCI et al., 2008).

Muitos modelos de previsão têm sido desenvolvidos para ajudar a caracterizar as massas ovarianas no que diz respeito ao diagnóstico por imagem (TAILOR et al., 1999; GEOMINI et al., 2009). Um destes modelos é o International Ovarian Tumor Analysis (IOTA), grupo formado em 1999 por Dirk Timmerman, Lil Valentin e Tom Bourne. Seu primeiro objetivo era desenvolver uma terminologia padronizada sobre os termos, definições e medidas para descrever os aspectos ultrassonográficos baseados nos modelos de análise de regressão logística (por exemplo, LR1 e LR2) das massas anexiais (IOTA, 2013), compreendendo um conjunto de estudos que estimam o risco de malignidade, bem como um conjunto de regras simples baseadas em imagens de ultrassonografia, que caracterizam as massas como benignas, malignas ou inconclusivas (TIMMERMAN et al., 2010; VAN HOLSBEKE et al., 2012; KAIJSER et al., 2013).

Os modelos de regressão logística adotados pelo IOTA adotavam 18 tipos de variáveis, sendo o LR1 incluindo 12 dessas variáveis e o LR2 incluindo 6. As 12 variáveis utilizadas na LR1 foram: (1) a história pessoal de câncer de ovário, (2) uso de terapia hormonal, (3) a idade da paciente, (4) diâmetro máximo da lesão; (5) dor durante o exame; (6) ascite, (7) fluxo de sangue dentro de uma projeção papilar sólida, (8) tumor totalmente sólido, (9) o diâmetro máximo do componente sólido, (10) presença de paredes internas irregulares no cisto, (11) sombras acústicas e (12) pontuação de cor. As seis variáveis utilizadas na LR2

foram: (1) a idade, (2) ascite, (3) o fluxo de sangue dentro de uma projeção papilar sólida, (4) o diâmetro máximo do componente sólido, (5) presença de paredes internas irregulares no cisto e (6) sombras acústicas. O modelo de regressão logística 2 (LR2) obteve uma maior precisão diagnóstica, comparado a outros modelos estudados, incluindo o risco de índices malignos (RMI) (KAIJSER et al., 2013). Embora o desempenho dos modelos do IOTA se aproxima de nível de avaliação objetiva, a melhor abordagem para a classificação de doenças anexiais permanece ainda como a avaliação subjetiva dos resultados de ultrassonografia por examinadores experientes (TIMMERMAN et al., 1999; TIMMERMAN, 2004).

O IOTA é amplamente usado hoje em diversos centros distribuídos pelo mundo coordenados a partir do centro da Universidade de Leuven na Bélgica. O IOTA tem desenvolvido novos estudos, divididos em 5 fases. Hoje, existem mais de 50 unidades clínicas que contribuem para os estudos IOTA em quase todos os continentes. (IOTA, 2013).

Mais recentemente, o grupo IOTA desenvolveu um modelo de caracterização mais detalhada das massas anexiais. A avaliação de diferentes neoplasias no modelo (ADNEX) considera três características clínicas e seis de ultrassonografia para prever o comportamento do tumor ovariano e poder classificá-lo em tumor benigno, tumor *Borderline*, tumor maligno de estágio I, tumor maligno de estágio II-IV e tumor maligno ovariano metastático (VAN CALSTER et al., 2015), permitindo, dessa forma, um diagnóstico mais específico. Além de diferenciar tumores benignos de malignos, o modelo IOTA ADNEX tenta identificar no pré-operatório os vários tipos histológicos de tumor, além de avaliar também a extensão tumoral. Esta classificação é clinicamente relevante (SHERMAN et al., 2004). A informação pré-operatória sobre o subtipo do tumor é essencial para o planejamento cirúrgico. As neoplasias ovarianas em estágio inicial requerem cirurgia menos invasiva quando comparadas com a doença em estádios mais avançados, fazendo com que dessa forma o tempo operatório possa ser encurtado. Os tumores *borderline*, e mesmo alguns tumores ovarianos em estadiamentos mais avançados, podem ser tratados com a cirurgia que preservem a fertilidade da paciente (PARK et al., 2008; VASCONCELOS & MENDES, 2015). Além disso, quando há a suspeita de um tumor metastático do ovário, surge à necessidade de uma avaliação pré-operatória mais detalhada para se identificar a origem e o tipo do tumor (SZUBERTA et al., 2016).

A cirurgia de citorredução seguida de quimioterapia são as principais estratégias terapêuticas para o manejo das massas anexiais ovarianas. O tratamento cirúrgico deve buscar a remoção mais completa do tumor, uma vez que a persistência de doença residual constitui um fator desfavorável para o seu prognóstico. A abordagem cirúrgica é de suma importância, não apenas para o reconhecimento do tumor, mas também para a realização de citorredução

máxima (ORAM et al., 1990). A citorredução máxima/ótima é definida como persistência de doença residual mínima, menos que 20 mm, após a cirurgia primária (RICCI et al., 2008). A sobrevida das pacientes está correlacionada com o estadiamento da doença na época do diagnóstico e com a doença residual após a primeira cirurgia (ZANETTA, et al., 1998).

O sistema de estadiamento para câncer ovariano é definido pela *International Federation of Gynecology and Obstetrics* (FIGO) (Quadro 3), é cirúrgico e se baseia nos resultados obtidos no momento da cirurgia. (ZEPPERINICK & MEINHOLD-HEERLEIN, 2014).

Quadro 3 – Estadiamento cirúrgico do câncer ovariano segundo a FIGO. Adaptado de The new FIGO staging system for ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer.

continua

<p>Estadio I – Tumor limitado aos ovários ou Trompa(s) de Falópio^a.</p> <p>Estadio IA: Tumor limitado a um ovário ou Trompa(s) de Falópio, não há células malignas na ascite ou lavado peritoneal. Sem tumor na superfície do ovário ou Trompa(s) de Falópio, com cápsula intacta.</p> <p>Estadio IB: Tumor limitado aos dois ovários ou Trompas de Falópio, não há células malignas na ascite ou lavado peritoneal. Sem tumor na superfície dos ovários ou Trompas de Falópio, com cápsula intacta.</p> <p>Estadio IC: Tumor limitado a um ou ambos os ovários ou Trompa(s) de Falópio, com alguma das alterações:</p> <p>IC1: Rompimento cirúrgico intra-operatório do tumor.</p> <p>IC2: Cápsula rota antes da cirurgia ou na superfície ovariana ou da Trompa(s) de Falópio.</p> <p>IC3: Células malignas na ascite ou no lavado peritoneal.</p>
<p>Estadio II – Tumor envolvendo um ou ambos os ovários ou Trompas de Falópio com extensão pélvica (abaixo cavidade pélvica) ou câncer peritoneal primário^b.</p> <p>Estadio IIA: Extensão e/ou metástase para útero e/ou Trompa(s) de Falópio e/ou Trompa(s) de Falópio e/ou ovários.</p> <p>Estadio IIB: Extensão para outros tecidos intraperitoneais pélvicos.</p>
<p>Estadio III – Tumor envolvendo um ou ambos os ovários ou Trompas de Falópio, ou câncer peritoneal, confirmação histológica ou citológica de propagação para o peritônio fora da pelve e/ou metástase para os linfonodos retroperitoneais.</p>

Estádio IIIA1: Somente linfonodos retroperitoneais positivos (comprovado citologicamente ou histologicamente).

IIIA1(i): Metástase de até 10 mm em sua maior dimensão.

IIIA1(ii): Metástase maior que 10 mm em sua maior dimensão.

Estádio IIIA2: Envolvimento peritoneal microscópico extrapélvico (acima da cavidade pélvica), com ou sem linfonodos retroperitoneais positivos.

Estádio IIIB: Metástase peritoneal macroscópica além da pelve até 2 cm em sua maior dimensão, com ou sem metástase para os linfonodos retroperitoneais (inclui extensão do tumor para cápsula do fígado e baço, sem envolvimento do parênquima de qualquer órgão).

Estádio IIIC: Metástase peritoneal macroscópica além da pelve acima de 2 cm em sua maior dimensão, com ou sem metástases para os linfonodos retroperitoneais (inclui extensão do tumor para cápsula do fígado e baço, sem envolvimento do parênquima de qualquer um dos órgãos).

Estádio IV – Metástases à distância excluindo metástases peritoneais.

Estádio IVA: O derrame pleural com citologia positiva.

Estádio IVB: Metástases para o parênquima e metástases para órgãos extra-abdominais (incluindo linfonodos inguinais e linfonodos fora da cavidade abdominal)^c.

Fonte: ZEPPERNICK & MEINHOLD-HEERLEIN, 2014.

^aNão é possível ter o câncer peritoneal no estágio I

^bAderências densas com células tumorais comprovadas histologicamente justificam a atualização de tumores do Estágio I para Estágio II.

^cMetástases extra-abdominais incluem infiltração intestinal transmural e depósito umbilical.

*O sistema de estadiamento do câncer ovariano é estabelecido pela International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) e se baseia nos resultados obtidos no momento da cirurgia.

A diferenciação dos processos expansivos ovarianos em benignos e malignos é crucial para que o clínico possa selecionar e aperfeiçoar o tratamento (MAYER et al., 1992; KEHOE et al., 1994) e somente pode ser feito pelo exame histopatológico.

Após a cirurgia de citorredução e avaliação tumoral, a quimioterapia é indicada. Apesar dos esquemas quimioterápicos derivados do platínio e dos taxanos, a sobrevida em 5 anos nos estadiamentos III e IV é de apenas 5 a 15%, enquanto que nos estádios I e II varia de 80 a 95% (DØRUM et al., 1996; YAWN et al., 2001). A taxa de sobrevida geral, em 5 anos, é de

50%, com 95% de sobrevida para paciente com neoplasia restrita aos ovários (estadiamento I), 79% naquelas com doença infiltrada em tecidos adjacentes aos ovários (estadiamento II) e de 28% naquelas com estágio clínico avançado (estadiamento IV) (SMITH, 2001). A caracterização correta de tumores ovarianos antes da cirurgia é de suma importância para aperfeiçoar o atendimento à paciente, o protocolo cirúrgico e, portanto, a sobrevivência da paciente (VERGOTE et al., 2001; EARLE et al., 2006).

Como protocolo de seguimento, durante o primeiro ano, as pacientes devem ser acompanhadas trimestralmente. Após o segundo ano, esse acompanhamento passa a ser semestral, e a partir do quinto ano, ele passa a ser anual. Segundo Ricci (2008), não há evidências de que o controle intensivo e a monitoração de pacientes assintomáticas tragam impacto positivo na sobrevida total ou na qualidade de vida das pacientes tratadas por câncer ovariano. Entretanto, o diagnóstico precoce da recidiva após um longo intervalo livre da doença apresenta melhores resultados.

1.1.3 Fatores Prognósticos no Câncer de Ovário

O câncer ovariano é um tipo de câncer ginecológico altamente letal para o qual o prognóstico global permaneceu pobre durante as últimas décadas (WU et al. 2005). Dois terços das pacientes apresentam doença em estágio avançado e a maioria dessas pacientes sofrerá com a recidiva da doença e necessitará de tratamento contínuo e, eventualmente, muitas se sucumbirão à doença (INGERSOLL et al., 2009). A sobrevida global é apenas 30% a 40% em cinco anos. Isto ocorre em parte porque a maioria das pacientes tem a doença diagnosticada em estadiamentos avançados, situação em que as opções de tratamento são restritas à cirurgia citorrredutora e à quimioterapia baseada nos derivados da platina. Estas modalidades terapêuticas são apenas parcialmente efetivas e, conseqüentemente, a maioria das pacientes apresentará recorrência e óbito em função da doença (REIS, 2005).

Os fatores de prognóstico definidos pela correlação com a sobrevida, em geral, refletem a extensão da doença (estádio), a biologia intrínseca do tumor (tipo e grau histológico) e a capacidade da paciente em tolerar o tratamento para a doença. Assim como estes fatores pré-tratamento, outros que podem ter impacto na sobrevida incluem o tipo de tratamento recebido (citorredução ótima, quimioterapia baseada em derivados da platina) e o efeito da terapêutica sobre o tumor (ex. resposta completa) ou sobre a paciente (ex. mielossupressão) (AGARWAL & KAYE, 2005). Entre estes fatores de prognóstico, o estadiamento da FIGO é considerado o mais importante (REIS, 2005). Além deste, a doença

residual após a cirurgia, o tipo histológico inicial e o grau do tumor são os mais importantes fatores prognósticos relacionados com a evolução da paciente (GADDUCCI et al, 2009).

Várias investigações avaliaram a relevância clínica de diferentes variáveis biológicas, avaliando desde amostras de tecido ou de soro de pacientes com câncer ovariano, a fim de detectar os biomarcadores capazes de prever tanto a resposta à quimioterapia ou a sobrevivência dessas pacientes. Os estudos sobre o papel de marcadores moleculares individuais demonstraram que a carcinogênese ovariana é um processo complexo, multifatorial associado com anormalidades em várias famílias de genes, que poderia ter uma relevância preditiva ou prognóstica (GADDUCCI et al, 2009). A cirurgia citorrredutora primária seguida de quimioterapia adjuvante continua sendo o tratamento padrão para pacientes com câncer ovariano. No entanto, a taxa de sobrevivência varia consideravelmente de paciente para paciente, mesmo o indivíduo estando no mesmo estágio patológico e tratamento. Estas diferenças de sobrevivência podem ser causadas por fatores relacionados com o hospedeiro e suas variações da resposta inflamatória (HIRASHIMA et al, 2014).

Há uma necessidade importante do desenvolvimento de novos biomarcadores de diagnóstico e prognóstico do câncer ovariano, que podem também, idealmente, servir como alvos de novas modalidades terapêuticas (ATHANASSIADOU et al., 2008). Nos últimos anos, a quantificação laboratorial dos marcadores da resposta inflamatória sistêmica, tais como a hipoalbuminemia, a hiperfibrinogenemia, a proteína C reativa (PCR), a contagem absoluta de leucócitos, a relação neutrófilos/linfócitos (RNL) e a relação plaquetas/linfócitos (RPL), foram introduzidos como fatores de prognóstico em pacientes com vários tipos de câncer, incluindo o câncer ovariano (BISHARA et al., 2008; HIRASHIMA et al., 2014). Mais recentemente, um estudo envolvendo dois desses marcadores inflamatórios, a RNL e a RPL, revelaram resultados favoráveis para esses marcadores, propondo que eles podem ser utilizados como preditores significativos de malignidade para tumores sólidos originários de vários tecidos, revelando também que eles podem ser utilizados como uma ferramenta de triagem para esses tumores, pois são considerados exames de baixo custo e prontamente disponível, no entanto, esse estudo indicou a necessidade de mais pesquisas para avaliar o valor adicional deste achado para estabelecer escores e indicar o potencial valor preditivo desses marcadores em cânceres ginecológicos (TEMPLETON et al., 2014).

1.2 O SISTEMA IMUNE NO CÂNCER OVARIANO

O câncer de ovário ainda permanece desafiante para a medicina. A fisiopatologia do câncer ovariano é complexa e ainda mal compreendida. O seu diagnóstico é grandemente afetado pela ausência de sinais e sintomas específicos, bem como a inexistência de biomarcadores confiáveis e pela própria localização anatômica do ovário. Em virtude disso, é frequentemente diagnosticado em estádios avançados, quando o prognóstico da doença é sombrio (DALTOÉ et al., 2010) e, devido a isso, os fatores prognósticos estabelecidos para a doença, tal como o estágio, doença residual após cirurgia inicial, tipo histológico e grau tumoral, têm valor limitado. Dessa forma, alternativas tem surgido para tentar descobrir métodos que melhoram o prognóstico da doença e oriente melhor a escolha da conduta terapêutica a ser tomada (BAMIAS et al., 2007).

Nos últimos anos, a inflamação crônica foi identificada como um fator-chave na patogênese do câncer ovariano (KISIELEWSKI et al., 2013). Além disso, a própria ovulação é um processo potencialmente inflamatório e mutagênico (FREEDMAN et al., 2004). Já é conhecido que o câncer ovariano estabelece uma forte associação com a inflamação e muitas vezes, na maioria dos tumores, existe uma complexa relação entre o tumor e o hospedeiro com presença de células inflamatórias e mediadores inflamatórios em seu microambiente, resultando na produção de quimiocinas, citocinas e prostaglandinas, que não apenas recrutam células inflamatórias como neutrófilos, mastócitos e macrófagos, mas também estimulam a angiogênese e a proliferação celular (BALKWILL & MANTOVANI, 2001; MANTOVANI et al., 2008;), sem contar que o tumor consegue burlar uma certa tolerância por parte do sistema imunológico (LI et al., 2012). A inflamação influencia todos os estágios da formação de câncer, incluindo iniciação, promoção e progressão tumoral (KISIELEWSKI et al., 2013). Vários mediadores inflamatórios são induzidos por células inflamatórias e/ou tumorais e participam na formação do câncer, atuando como fatores de crescimento ou angiogênicos. Além disso, a função imune é comprometida por esses mediadores fazendo com que há um aumento dos níveis de leucócitos, neutrófilos, plaquetas, proteína C reativa (PCR) e fibrinogênio e também diminuindo as concentrações de linfócitos e albumina. Embora o número de plaquetas circulantes possa ser significativamente aumentado pela trombocitose induzida pelo câncer, os mecanismos responsáveis ainda permanecem pouco compreendidos (HONN et al., 1992). Um estudo multicêntrico realizado por Stone e colaboradores concluiu que a trombocitose está significativamente associada com o mau prognóstico e influenciando diretamente na sobrevida das pacientes, além disso, esse estudo revelou que a citocina

inflamatória interleucina-6 (IL-6) pode influenciar a trombocitose no câncer ovariano estimulando a síntese de trombopoietina hepática (STONE et al., 2012).

Em pacientes com câncer, há uma desordem no funcionamento da resposta imune envolvendo tanto a imunidade inata e quanto a adaptativa, incluindo os processos citotóxicos e de secreção de anticorpos, o que pode aumentar a susceptibilidade ao crescimento e invasão das células cancerosas e conseqüentemente o desenvolvimento do tumor (BELLATI et al., 2009; GAVALAS et al., 2010). Um dos mecanismos de escape que favorece a manutenção do câncer ovariano é o desencadeamento de um desequilíbrio na resposta T helper 1 (Th1) e T helper 2 (Th2), desviando a resposta imunitária de Th1 para Th2 e resultando, dessa forma, em um prejuízo dos processos que controlam a homeostase no microambiente tumoral (KUSUDA et al., 2005). A resposta imune do tipo Th1 estimula a imunidade celular ativando os macrófagos e as células dendríticas e recrutando células T citotóxicas (Tc) CD8+ e células *Natural Killers* (NK). A resposta imune do tipo Th2 inibe a imunidade mediada por células e favorece a resposta imune humoral. A geração de uma resposta imune do tipo Th1 ou Th2 depende do equilíbrio entre as citocinas (SYKES et al., 2012). Há cada vez mais evidências de que a ativação de células T e sua expressão de citocinas desempenham um papel fundamental na diminuição e desregulação da resposta imune inflamatória e antitumoral (LOWE & STORKUS., 2011).

O ambiente tumoral em que se desenvolve o carcinoma ovariano tem sido descrito como um amplo local rico em citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas. Em particular, várias destas citocinas, tais como IL-1 β , IL-6 e IL-12, são produzidas pelo próprio tumor, além de estimularem o crescimento das células cancerosas, essas citocinas também são responsáveis pela criação de um microambiente específico que pode promover a proliferação celular e o crescimento tumoral, afetando diretamente na gravidade da inflamação (FRIDMAN et al., 2011). A produção desequilibrada de citocinas Th1/Th2 pode predispor a alterações na secreção de citocinas pró-inflamatórias e conseqüentemente agravar a progressão do tumor (ELLYARD et al., 2007).

1.2.1 Células do Sistema Imune

Trabalhos recentes demonstram a significância prognóstica dos elementos da resposta imune frente aos cânceres ovarianos. A presença de algumas populações de leucócitos infiltrando ou associadas ao tumor foi correlacionada com melhor prognóstico da doença, enquanto a presença de outras foi associada ao seu pior prognóstico, indicando o papel

protetor e, ao mesmo tempo, promotor do sistema imune sobre o câncer (ZHANG et al., 2003; CURRIEL et al., 2004; SATO et al., 2005; HAGEMANN et al., 2006).

Estudos realizados em vários tecidos tumorais demonstram que há uma forte infiltração de leucócitos intratumoral e nas adjacências dos tumores. Nos cânceres, a presença destas células está relacionada à resposta ao tumor, em decorrência de processos inflamatórios pré-câncer ou por substâncias produzidas pelas próprias células tumorais (VAKKILA & LOTZE, 2004).

No câncer ovariano, algumas subpopulações de leucócitos têm sido relacionadas com melhor prognóstico, enquanto outras com prognóstico ruim. A presença dessas células imunes infiltrantes no tumor permite uma melhor predição no resultado clínico do que outros parâmetros histopatológicos usados, indicando que o perfil imunológico pode ser útil na condução de formas alternativas de tratamento, tal como a imunoterapia (DALTOÉ et al., 2010; GALON et al., 2006).

1.2.1.1 LINFÓCITOS T

Existem subpopulações entre os linfócitos T. Entre elas estão os linfócitos T helper ou auxiliares (CD3+ CD4+) e os linfócitos T citolíticos ou citotóxicos (CD3+ CD8+). Os primeiros estimulam o crescimento e diferenciação de linfócitos B e ativam macrófagos pela secreção de citocinas. Já os últimos lisam as células infectadas por vírus e as tumorais (ABBAS et al., 2008).

Os linfócitos T CD3+ representam a maior população leucocitária detectada em tumores ovarianos. Além de infiltrarem o tumor (TIL - Linfócitos Infiltrantes ao Tumor) são encontrados também no líquido ascítico (TAL – Linfócitos Associados ao Tumor). A presença dos linfócitos infiltrantes está relacionada com uma maior taxa de sobrevida em pacientes com diagnóstico de câncer ovariano em estádios III e IV comparados com aquelas pacientes em que não apresentavam tais linfócitos. Além desses dados, a citorredução ótima também foi observada na maioria das pacientes que apresentavam tais células (ZANG et al., 2003).

Em comparação com neoplasias epiteliais benignas do ovário, os carcinomas apresentam significativamente maior nível de células T CD3+ CD8+, sugerindo que a presença desses linfócitos está relacionada a um melhor prognóstico à resposta clínica do câncer ovariano (HELAL et al., 2004).

Apesar do papel protetor sugerido pelos linfócitos T, uma população, a de linfócitos T CD3+ CD4+ CD25+, tem sido relacionada a prognóstico ruim do câncer ovariano.

Denominadas células T reguladoras (Treg), têm importante papel na manutenção da tolerância imunológica aos antígenos próprios, através da supressão das funções de ativação e efectoras dos linfócitos T auto reativos maduros (ABBAS et al., 2008). Entretanto, as células Treg podem bloquear os efeitos protetores dos linfócitos T tumor-específicos em pacientes com câncer ovariano e suprimir a produção de INF- γ e interleucina 2 (IL-2) pelos linfócitos T. A alta taxa de células Treg foi apontada como preditora de risco de morte e reduzindo a sobrevida em pacientes com câncer de ovário, em todos os estádios (CURIEL et al., 2004).

1.2.1.1.1 Linfócitos T *Natural Killer* (NKT)

As células T *Natural Killer* (NKT) são linfócitos T que apresentam receptores para células NK e para linfócitos T. No câncer de ovário, assim como em melanoma, câncer de mama, pâncreas, pulmão e colorretal, as células NKT foram associadas à inibição do crescimento tumoral, através de lise das células tumorais (LAMKIN et al., 2008).

O nível de células NKT, no câncer ovariano, é significativamente maior no tumor e na ascite do que no sangue periférico. A presença de NKT na ascite está associada à resistência ao tratamento quimioterápico com derivados de platina. Assim sendo, o grande número de células NKT na ascite pode ser um preditor de sensibilidade à platina (BAMIAS et al., 2007).

1.2.1.2 LINFÓCITOS NATURAL KILLER (NK)

Esses linfócitos não apresentam marcadores para linfócitos T e nem B. As células NK são capazes de destruir células que tem expressão reduzida de moléculas do MHC de classe I, que conseguem escapar da destruição pelos linfócitos T citotóxicos (ABBAS et al., 2008).

O número de células NK encontradas no sangue periférico de pacientes diagnosticadas com câncer de ovário em estádios avançados foi significativamente maior que no tumor e na ascite (SANTIN et al., 2001). O número aumentado de células NK na ascite foi relacionado à pior resultado clínico do câncer ovariano, com diminuição da sobrevida (SHI & VAN, 2006).

A presença do marcador CA125 inibe a função de lise das células NK, podendo reduzir em até 70% da sua capacidade citolítica. O CA125 liga-se às células NK, em especial a uma subpopulação destas, as células NK CD16+ CD56+. Estas representam cerca de 90% das células NK presentes no sangue periférico (BELISLE et al., 2007).

1.2.1.3 MACRÓFAGOS

Os macrófagos são membros do sistema fagocitário mononuclear. Entre suas funções estão a fagocitose de partículas estranhas, a produção de citocinas pró-inflamatórias e a apresentação de antígenos para os linfócitos T (ABBAS et al., 2008). Os macrófagos tumor-associados (TAM) são capazes de afetar diversos aspectos dos tecidos neoplásicos, tais como, vascularização, taxa de crescimento, formação e dissolução do estroma (MANTOVANI et al., 1992).

Os macrófagos constituem cerca de 51% da população de células mononucleares infiltradas nos carcinomas de ovário, tendo sido observados em todos os tumores malignos. Já nos tumores benignos a presença dessas células foi detectada em 57% dos tumores. O número médio de macrófagos foi significativamente maior nos carcinomas quando comparados aos tumores benignos (HELAL et al., 2004).

1.2.2 Citocinas

As citocinas são uma variedade de polipeptídeos e glicoproteínas de baixo peso molecular (menor que 80 kD) que atuam na intercomunicação celular (HAMBLIN, 1993), e são produzidos por leucócitos e outras células, em resposta a diferentes estímulos (ABBAS et al., 2008), regulando as funções de proliferação, diferenciação e morte celular programada (FLORES et al., 2001). Podem ser secretadas e/ou expressas em membranas celulares ou na matriz extracelular (HAMBLIN, 1993) e geralmente não são armazenadas e sua síntese é iniciada por transcrição de genes como resultado da ativação celular (ABBAS et al., 2008).

São também chamadas de citoquinas, linfocinas (devido à maioria das citocinas da imunidade específica serem produzidas por linfócitos T ativados), monocinas (por serem produzidas principalmente por fagócitos mononucleares na imunidade natural), imunotransmissores, imunocitocinas (por serem produzidas em grande parte pelo sistema imune), quimiocinas (por algumas citocinas compartilharem a capacidade de estimular o movimento leucocitário, quimiotaxia, e o movimento dirigido, quimiotaxia) e interleucinas (uma hipótese importante gerada na década de 70 foi que as citocinas eram sintetizadas principalmente por leucócitos e primariamente atuavam sobre outros leucócitos e, desta forma, poderiam ser chamadas interleucinas (IL) (ABBAS et al., 2008).

Um dos aspectos mais importantes das citocinas é o amplo espectro do seu potencial de ação. Podem ser produzidas por qualquer célula do corpo, com exceção dos eritrócitos, e

desempenham um papel fundamental na regulação dos processos biológicos, tais como: no crescimento e ativação celular, quimiotaxia, inflamação, imunidade, reparo tecidual, fibrose e na morfogênese (ABBAS et al., 2008). São importantes na estimulação e supressão dos sistemas da resposta imune, desencadeando e coordenando a resposta inflamatória (HAMBLIN, 1993) e por serem determinantes na regulação da função, crescimento e diferenciação celular desse sistema, apresentam funções-chave na defesa do hospedeiro (NEGUS et al., 1997).

A resposta imune pode ser avaliada de acordo com o perfil de citocinas secretadas pelos linfócitos T helper ou auxiliares (CD3+ CD4+) nos subtipos T helper 1 (Th1) e T helper 2 (Th2).

Na resposta imune do tipo Th1 estão envolvidas as citocinas IL-2, CXCL-8 (IL-8), TNF- α e IFN- γ e é caracterizada por estimular células que participam das reações de citotoxicidade e defesa do hospedeiro contra doenças virais, microbianas e neoplásicas. Há ativação dos macrófagos e dos mecanismos citotóxicos, levando a extensa destruição das zonas infectadas por fagocitose. É eficaz na eliminação dos agentes patogênicos intracelulares. Neste trabalho iremos abordar algumas dessas citocinas como a IL-2, a IL-8 e o TNF- α . Já na resposta do tipo TH2 há secreção de IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10 e as células envolvidas nessa resposta atuam principalmente na resposta imune humoral, estimulando a produção de anticorpos pelos linfócitos B e atuando na defesa do hospedeiro contra organismos circulantes no sangue, doenças parasitárias e reações atópicas (BECKER et al., 2003). É eficaz contra organismos que circulem no sangue, como bactérias extracelulares e parasitas. Neste trabalho iremos abordar algumas dessas citocinas como a IL-5, a IL-6 e IL-10.

Recentemente, a contribuição das citocinas tem sido demonstrada para o câncer. As citocinas podem estimular o crescimento celular e contribuir para a metástase. Grande quantidade de leucócitos, principalmente macrófagos e linfócitos, os TAMs, podem ser encontrados no estroma tumoral (NEGUS et al., 1997) e em efusões neoplásicas (MANTOVANI, 1997), sendo capazes de produzir citocinas do tipo Th1 e Th2. Um progressivo desvio no comportamento das TAMs e no perfil de produção de citocinas Th1 para Th2 pode ocorrer durante a progressão tumoral, o que reduziria a resposta imune ao tumor (MANTOVANI et al., 1997). A participação das citocinas na oncogênese revela suas atuações, isolada ou em conjunto com outras citocinas, em atividades imunomoduladoras da resposta imunológica contra as neoplasias e, conseqüentemente, na sinalização entre células inflamatórias e o tecido neoplásico invasivo. Essa sinalização poderia inferir ou não em

vantagens seletivas ao crescimento das células malignas (STEIN & DALGLEISH, 1994; PRIES & WOLLENBERG, 2006), indicando que as citocinas são importantes no estudo da interação tumor-hospedeiro possuindo propriedades pró-tumorais ou antitumorais (PRIES & WOLLENBERG, 2006).

Existem diferenças na quantidade de citocinas expressadas no microambiente tumoral entre tumores não neoplásicos, neoplasias benignas e malignas de ovário, sugerindo um papel significativo das citocinas na progressão tumoral (TAVARES-MURTA et al., 2004). Se as citocinas forem sintetizadas permanentemente, estas substâncias podem ser utilizadas como marcadores de ativação do sistema imune (STEIN & DALGLEISH, 1994; PRIES & WOLLENBERG, 2006).

1.2.2.1 INTERLEUCINA 2 (IL-2)

A IL-2 é uma glicoproteína de 14 a 17 kD que se enovela em uma proteína globular contendo quatro α -hélices. É produzida principalmente por linfócitos T CD4+, podendo ser sintetizada em menor quantidade por células B e monócitos. O principal estímulo para sua produção são as bactérias e seus produtos, alguns parasitas também podem induzir sua síntese, além de outras citocinas como IFN- α e IL-1. Para que aconteça a sua produção máxima, são necessários sinais, principalmente a presença de IFN- α e IL-1 (WAXMAN & BALKWILL, 1992). Suas atividades são mediadas por um receptor de membrana, de afinidade variada, expresso em células T ativadas, em menor número em T não ativadas e B ativadas. Os monócitos raramente expressam este receptor. A IL-2 é o principal fator estimulador de células T, sendo um fator de crescimento e ativação para todas as subpopulações de linfócitos T, induzindo ciclo celular para células T não ativadas e expansão clonal de células T ativadas (HATAKEYAMA et al., 1989). Ativa ainda as células B, necessitando para tal, fatores adicionais, como IL-4 (ABBAS et al., 2008). Apresenta ação tumoricida por participar da ativação, crescimento e estímulo das células Natural Killer (NK) (GRIMM et al, 1983).

A IL-2 não especifica o tipo de diferenciação Th que participa, pois modula a expressão de receptores e fatores de transcrição para outras citocinas, promovendo ou inibindo as citocinas que se correlacionam com cada estado de diferenciação de Th (LIAO et al., 2011). É produzida inicialmente em uma resposta imunitária Th1, considerada mediadora crítica do equilíbrio Th1/Th2 e está envolvida no processo de carcinogênese por induzir a inflamação nos órgãos humanos (DIAZ OREA et al., 2017).

1.2.2.2 INTERLEUCINA 5 (IL-5)

A IL-5 é produzida pelo grupo Th2 de células T CD4+ e por mastócitos ativados. As principais ações da IL-5 são estimular o crescimento e a diferenciação de eosinófilos e ativar os eosinófilos maduros (ABBAS et al., 2008). Em células B atua como um importante fator na mudança de classe para a produção da imunoglobulina IgA (CLUTTERBUCK et al., 1987; TAKATSU et al., 1988). É uma citocina que faz parte da família hematopoiética (MILBURN et al., 1993).

1.2.2.3 INTERLEUCINA 6 (IL-6)

A IL-6 é uma interleucina que atua como uma citocina pró-inflamatória. Pode ser produzida por vários tipos celulares, incluindo fagócitos mononucleares ativados, células endoteliais e fibroblastos, sendo as células B, T e monócitos as suas principais fontes. Os estímulos para a sua síntese são o contato com outras citocinas como IL-1 e TNF- α e a resposta frente a microrganismos, principalmente bactérias (ABBAS et al., 2008). É uma citocina pleiotrópica que influencia a resposta imune antígeno específicas e reações inflamatórias, sendo um dos maiores mediadores da fase aguda da inflamação (HEINRICH et al., 1990). Ela estimula a produção de proteínas da fase aguda da inflamação nos hepatócitos, e a produção de neutrófilos pela medula óssea, além de estimular o crescimento dos linfócitos B (ABBAS et al., 2008). Tem ainda ação importante na atração de eosinófilos para o local de inflamação (HEINRICH et al., 1990).

A IL-6 influencia a na função ovariana e no processo de ovulação, fertilização e implantação (DESPHANDE et al, 2000). Pode estar associada à progressão tumoral através de inibição da apoptose de células malignas (TABIBZADEH, 1989). Elevadas concentrações de IL-6 podem ser encontradas em neoplasias malignas renais, colorretais, ovário, mama, endométrio e pulmões. Em neoplasias malignas de ovário a IL-6 é relatada como fator prognóstico da doença (AKAHIRO et al, 2004), assim como um fator prognóstico na identificação de tumores resistentes à quimioterapia (BELLONE et al., 2005). Níveis séricos de IL-6, IL-8 e IL-18 podem se correlacionar ao pior prognóstico no câncer de ovário e com a sobrevida global (SCAMBIA et al., 1995; AKAHIRO et al., 2004; KASSIM et al., 2004).

1.2.2.4 INTERLEUCINA 8 (IL-8)

A IL-8 é uma quimiocina, também denominada citocina quimiotática, representada oficialmente por CXCL-8. As quimiocinas são uma grande família de citocinas estruturalmente homólogas que estimulam o movimento dos leucócitos e regulam a migração dessas células do sangue para os tecidos (ABBAS et al., 2008).

A IL-8 é o principal mediador da resposta imune inata inicial aos microrganismos intracelulares e é a indutora-chave da imunidade mediada por células contra esses organismos. É produzida principalmente por macrófagos, monócitos, linfócitos e em menor quantidade por fibroblastos, células endoteliais, queratinócitos, melanócitos, hepatócitos e condrócitos e pelas células dendríticas. Seus estímulos normalmente são a IL-1, TNF- α e IFN- γ e estimula a diferenciação dos linfócitos Th0 em Th1 produtores de IFN- γ . Pode ser inibida por corticosteróides e ciclosporina A (BAGGIOLINI et al., 1994).

A principal ação da IL-8 é servir como estímulo migratório para as células do sistema imune, principalmente neutrófilos, além de favorecer o aumento da expressão de moléculas de adesão por células endoteliais. Também ativa os neutrófilos, aumentando o seu metabolismo oxidativo e também participa do processo que antagoniza a produção de IgE estimulada pela IL-4, mas não afeta a produção das demais imunoglobulinas (ZWAHLEN et al., 1993).

É uma citocina pro-angiogênica, encontrada em diversos tipos de neoplasias humanas (XIE, 2001). Sua expressão em células do melanoma humano e do câncer ovariano está correlacionada ao potencial metastático do tumor (XU & FIDLER, 2000; HUANG et al, 2002; AGGARWAL et al, 2006) e por exercer vários efeitos sobre o sistema imune e estar relacionada à angiogênese, ao crescimento e a proliferação das células cancerosas (KOZŁOWSKI et al., 2003). A expressão de IL-8/CXCL-8 tem sido descrita como um potencial biomarcador do câncer ovariano (LOKSHIN et al., 2006) e o aumento da sua expressão é encontrado tanto no soro, como na ascite e no tecido tumoral dessas pacientes (WANG et al., 2012). Além disso, vários estudos têm demonstraram que a IL-8 está diretamente relacionada com o pior prognóstico da doença (MAYERHOFER et al., 2001; KASSIM et al., 2004).

1.2.2.5 INTERLEUCINA 10 (IL-10)

A IL-10 é produzida principalmente por linfócitos T citotóxicos (CD3+ CD8+), linfócitos B, mastócitos e monócitos ativados por LPS, estes sendo fontes menos importantes.

Pacientes com AIDS e linfoma de Burkitt secretam grandes quantidades de IL-10. A síntese é inibida por IL-4 e pela própria IL-10 (BENJAMIN et al., 1992).

O efeito principal da IL-10 é inibir a síntese de outras citocinas, como o IFN- γ , IL-2, IL-12, TNF- β . Inibe ainda a proliferação de células do tipo Th1, diminuindo a sua função citolítica e a secreção de citocinas por essas células, mas não interferindo nas do tipo Th2, facilitando o desenvolvimento da resposta Th2. A IL-10 atua como um co-estimulador, tanto para a proliferação de mastócitos e seus progenitores, quanto para o crescimento dos linfócitos T imaturos, agindo como um fator de diferenciação para as células T citotóxicas, sendo esta ação de menos intensidade (THOMPSON-SNIPES et al., 1991).

A IL-10 é uma citocina multifuncional e pode inibir a resposta imune do tipo celular e as funções das células TH1 (CD4+) imunocompetentes pelo bloqueio da função de apresentação de antígenos por estas células (LLANES-FERNANDEZ et al., 2009). Pode atuar, juntamente com a IL-8, na progressão da malignidade tumoral, interferindo diretamente na angiogênese, no crescimento e proliferação das células malignas (KOZŁOWSKI et al., 2003; VURAL et al, 2010). A IL-10 é um inibidor de macrófagos ativados, o que lhe cabe um importante papel no controle homeostático das reações da imunidade inata e da imunidade celular (VURAL et al, 2010).

1.2.2.6 FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA (TNF- α)

O TNF- α é sintetizado principalmente por macrófagos e monócitos ativados, embora neutrófilos, células T ativadas, células NK e mastócitos, após estimulação por LPS, também o sintetizam. A produção do TNF- α é estimulada por IFN, IL-1, IL-2, GM-CSF, substância P, bradicinina, imuno-complexos, inibidores da cicloxigenase e pelo PAF, e sua produção pode ser inibida por ciclosporina, dexametasona, PGE2, IL-6 e antagonistas do PAF. TNF- α e TNF- β ligam-se aos mesmos receptores no início, mas intracelularmente, após a endocitose deste complexo, exercem atividades distintas (TRACEY & CERAMI, 1993).

A principal atividade biológica do TNF- α é promover o recrutamento de leucócitos para os sítios de infecção e ativar essas células contra os microrganismos, estimular os hepatócitos a produzirem proteínas da fase aguda da inflamação e de estimular a produção de IL-6 (ABBAS et al., 2008). As alterações endoteliais, principalmente a perda da função de diminuição da coagulação, a atividade quimiotática e o estímulo ao metabolismo oxidativo dos fagócitos, são ações do TNF- α compartilhadas com a IL-1. Como atividade antitumoral, o TNF- α apresenta uma acentuada citólise e citoestase em diferentes linhagens de células

neoplásicas, tendo uma ação antitumoral importantíssima. (MACKAY et al., 1993; TARTAGLIA et al., 1993).

O TNF- α , além de ser um dos principais mediadores da inflamação, também é produzido por tumores. Vários estudos têm associado à inflamação com a tumorigênese ovariana, indicando que o TNF- α desempenha um papel chave na modulação da invasão, angiogênese e metástase tumoral (SZLOSAREK et al., 2007; SETHI et al., 2008). É o principal mediador na caquexia das neoplasias malignas (MACKAY et al., 1993; TARTAGLIA et al., 1993). A atividade biológica do TNF- α pode ser modulada pelos seus receptores de superfície de membrana, os TNF-R. Estas proteínas são expressas na superfície da membrana e tem grande capacidade de se ligarem ao TNF (BALKWILL, 2006; BERTAZZA & MOCELLIN, 2008). A regulação dos TNF-Rs é um fator crítico para se verificar a capacidade de resposta das células tumorais ao TNF- α . Os TNF-R apresentam também uma forma solúvel, os sTNF-R, e estas formas são antagonistas de citocinas específicas. Elas se ligam no TNF- α circulante e inibem a sua atividade biológica, impedindo a sua ligação aos receptores celulares. Altas concentrações de TNF-R solúvel podem inibir a atividade do TNF e podem, assim, representar um mecanismo de escape do tumor contra os efeitos destrutivos de TNF- α . Embora o papel patogênico real dos sTNF-Rs permaneça controverso, eles têm sido propostos como marcadores fidedignos de local de produção de TNF- α (ANDERSON et al., 2004; SZLOSAREK et al., 2006).

1.3 ÓXIDO NÍTRICO

Em 1987 identificado como um mensageiro biológico, o óxido nítrico (NO) é considerado como sendo uma das menores moléculas existentes e a sua descoberta causou um grande aumento nas investigações científicas com o intuito de tentar decifrar as suas atividades fisiológicas e a sua participação nas doenças (XU et al., 2002).

O NO é gerado por uma família de isoenzimas, a sintase de Óxido Nítrico (NOS), através da catálise enzimática do aminoácido essencial L-arginina, que resulta na formação de L-citrulina e NO (MONCADA et al., 1991). Existem três isoformas de NOS, na qual, duas são constitutivas (NOSc) e uma é induzida (NOSi) (XU et al., 2002). As isoformas constitutivas (NOSc) são a NOS neural (NOSn/NOS1) e a NOS endotelial (NOSe/NOS3) (MICHEL & FERON, 1997; ALDERTON et al., 2001), constitutivamente expressa em alguns tipos de células, principalmente neurônios e células endoteliais, respectivamente (MOCELLIN et al., 2007). A NOSc é citoplasmática e dependente de Ca²⁺/calmodulina,

produzindo NO em pequenas concentrações e por curtos períodos de tempo em resposta à estimulação física ou de receptores (MONCADA et al., 1991). A outra isoformas, a induzida (NOSi/NOS2), é citoplasmática e Ca^{2+} independente, é produzida em macrófagos, células endoteliais e outros tipos celulares após estimulação por lipopolissacarídeos (LPS) e/ou citocinas como IFN- γ , fator de necrose tumoral (TNF), principalmente do tipo alfa (TNF- α) e interleucinas e sob essas condições, o NO gerado, tem a sua liberação prolongada e é produzido em maiores concentrações (MONCADA et al., 1991; DACHS & TOZER, 2000; KLEINERT et al., 2003). O aumento da NOSi está relacionado com alguns tipos de carcinomas (BULUT et al, 2005; OZEL et al, 2006).

Inicialmente descrito como um fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF) (PALMER et al., 1987), o NO é um radical livre atuando como um mensageiro gasoso que afeta várias funções biológicas. Em baixas concentrações atua como um transdutor de sinal em muitos processos fisiológicos (por exemplo, a regulação do fluxo sanguíneo, homeostase de ferro, a reatividade plaquetária, neurotransmissão e modulação da resposta imune mediada por células) e em altas concentrações, como um mecanismo de defesa contra patógenos citotóxicos, e tumores (IGNARRO, 2000). Estudos indicam que o NO e os radicais derivados do metabolismo do oxigênio como os superóxidos são moléculas-chave na patogênese de várias doenças infecciosas (AKAIKE & MAEDA, 2000). Além disso, evidências acumuladas sugerem que níveis cronicamente elevados de NO estão envolvidos na patogênese de algumas condições patológicas humanas, tais como a doença inflamatória intestinal (SHAH et al., 2004), doenças neurodegenerativas (ISCHIROPOULOS & BECKMAN, 2003) e câncer (LALA & CHAKRABORTY, 2001; XU et al., 2002). Neste contexto pode-se demonstrar que o aumento da produção de NO está diretamente ligado ao aumento da regulação da NOSi.

Vários pesquisadores relataram a expressão de NOSi por células malignas ou no microambiente do tumor, tanto em nível de mRNA e proteína (MOCELLIN et al, 2007), sendo sua marcação imunohistoquímica mais intensa em neoplasias malignas comparadas com neoplasias benignas (NOMELINI et al, 2008). No câncer de ovário, a atividade da NOSi foi localizada nas células tumorais e nos melanócitos, mas não no tecido ovariano normal (THOMSEN et al, 1994; MASSI et al, 2001). Outros tumores que expressam a NOSi são de cabeça e pescoço (PARK et al, 2003), esôfago (WILSON et al, 1998), pulmão (AMBS et al, 1998), próstata (KLOTZ et al, 1998), tumores do cérebro (COBBS et al, 1995), neoplasias hematológicas (ROMAN et al, 2000; MENDES et al, 2001), dentre outros. Na carcinogênese humana, a NOSi está relacionada na regulação de imunossistemas, apoptose de células e angiogênese (BUTTERY et al, 1993).

O NO foi incriminado como agente de iniciação da carcinogênese, que, associado a outros fatores, poderia levar ao descontrole da citoestase e da diferenciação celular. A diversidade de efeitos do NO parece estar relacionada às concentrações de NO gerados, à sensibilidade individual das células e à duração do fenômeno (MONCADA et al, 1991; SWITZER et al. 2012). Altas concentrações de NO induzem apoptose, mas baixas concentrações estimulam o crescimento tumoral por indução da angiogênese (HAO et al., 2001), fazendo com que o NO apresente uma complexidade de efeitos, ora contribuindo para a regressão do tumor ora para a sua progressão. O NO é, portanto, um alvo atraente para novas estratégias de diagnóstico e prognóstico, e para futuros métodos de terapia no câncer.

2 HIPÓTESE

Os processos neoplásicos malignos são capazes de desencadear uma desregulação na resposta inflamatória do indivíduo, alterando o perfil populacional de células inflamatórias e a produção de diversos mediadores da inflamação, podendo, conseqüentemente, promover o crescimento tumoral. Nossa hipótese é de a concentração de algumas citocinas, tais como IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α e metabólitos de óxido nítrico (NO) no líquido intracístico seja diferente entre as neoplasias benignas e malignas primárias de ovário, e que estejam correlacionadas com melhor ou pior prognóstico da doença, indicando o papel protetor e, ao mesmo tempo, promotor do sistema imune sobre o câncer.

3 OBJETIVOS

- a) Comparar a dosagem de citocinas (IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- α) e metabólitos de óxido nítrico (NO) no líquido intracístico de tumores não neoplásicos e neoplasias benignas e malignas primárias de ovário.

- b) Relacionar a dosagem de citocinas e metabólitos de NO intracístico com parâmetros clínicos, laboratoriais e patológicos de pacientes com neoplasia maligna primária de ovário.

4 PACIENTES E MÉTODOS

Apresentam-se as pacientes participantes e os métodos realizados no desenvolvimento desse estudo. As características das pacientes são listadas abaixo e os métodos são descritos nos itens seguintes.

4.1 PACIENTES

Foram avaliadas inicialmente 126 pacientes com diagnóstico de massa anexial, atendidas no Ambulatório de Massa Pélvica da Disciplina de Ginecologia e Obstetrícia / Instituto de Pesquisa em Oncologia (IPON) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM, submetidas a tratamento cirúrgico por laparotomia exploradora de acordo com critérios pré-estabelecidos (MURTA et al., 2004; MURTA & NOMELINI, 2006), no período de maio de 2009 a dezembro de 2016 e com posterior diagnóstico de tumor neoplásico ou não neoplásico ovariano confirmado.

De acordo com a classificação anatomopatológica do tipo de tumor ovariano após a cirurgia, as pacientes foram agrupadas em 3 grupos: (1) Tumores não-neoplásicos (n=17) (Anexo A); (2) Neoplasias Benignas (n=71) (Anexo B) e (3) Neoplasias Malignas (n=22) (Anexo C). Após a confirmação anatomopatológica, os endometriomas foram excluídos do estudo (n=15). As 110 pacientes selecionadas, as quais estavam enquadradas dentro dos critérios de inclusão do trabalho, representam o “n” deste estudo.

4.1.1 Dados Avaliados

Os seguintes dados dos prontuários foram anotados em banco de dados específico para o estudo: idade, tipo histológico, grau histológico, estadiamento (FIGO), modelo da carcinogênese em tipo 1 e tipo 2 (no caso de tumores ovarianos epiteliais), metástases em linfonodos, data da cirurgia, data da primeira recidiva, data da última consulta, sobrevida global, sobrevida livre da doença, data do óbito (quando houve), exames laboratoriais e os resultados dos experimentos. Dentre os exames laboratoriais foram colhidas informações do hemograma (hemoglobina, valor absoluto de neutrófilos e linfócitos, plaquetas, relação neutrófilo/linfócito (RNL) e relação plaqueta/linfócito (RPL)), glicose e marcadores tumorais pré-operatórios (CA125, CA15.3, CA19.9).

Os valores de RNL e RPL foram obtidos através da divisão do número absoluto de neutrófilos e plaquetas pelo número absoluto de linfócitos, respectivamente. Utilizou-se como valor de corte 2,6 para RNL (ASHRAFGAMJOEI et al, 2016) e 300 para RPL (ASHER et al, 2011).

Para a avaliação da sobrevida livre de doença (SLD), os grupos foram divididos em SLD menor que 36 meses e SLD maior que 36 meses. Para a avaliação da sobrevida global (SG), os grupos foram divididos em SG menor que 60 meses e SG maior que 60 meses. As pacientes que perderam o seguimento, ou cujos dados estavam incompletos no prontuário foram excluídas para essas avaliações.

O estudo foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro com o número de protocolo 1408 (Anexo D). Consentimento livre e esclarecido por escrito foi obtido de cada paciente ou de seus familiares (Apêndice A).

4.1.2 Critérios de indicação de Laparotomia Exploradora

Os critérios de indicação de laparotomia exploradora foram: (1) cistos anecóicos com diâmetro máximo menor que 7,0 cm e com persistência da alteração por mais que 6 meses e marcadores tumorais normais; (2) marcadores tumorais alterados; (3) cistos anecóicos com diâmetro máximo maior ou igual a 7,0 cm; (4) massas ovarianas com conteúdo sólido, presença de vegetação intracística, 1 septo grosso e/ou 2 ou mais septos finos; (5) *Color Doppler* com índice de resistência menor ou igual a 0,4 e índice de pulsatilidade menor ou igual a 1,0; (6) bilateralidade; (7) presença de ascite (MURTA et al., 2004; MURTA & NOMELINI, 2006).

4.1.3 Critério de inclusão

Pacientes portadoras de massas anexiais não neoplásicas, benignas e malignas de ovário.

4.1.4 Critérios de exclusão

- a) Presença de torção do pedículo anexial;
- b) Rotura do cisto durante o procedimento cirúrgico;
- c) Neoplasia maligna secundária de ovário (metástase);

- d) Tratamento prévio à cirurgia (Quimioterapia);
- e) Recidiva;
- f) Endometrioma;
- g) Doenças sistêmicas autoimunes.

4.2 MÉTODOS

Na descrição dos métodos, são apresentados o modelo de estudo, a realização do estudo anatomopatológico, a coleta do líquido intracístico, os protocolos adotados para a realização do ensaio imunoenzimático (ELISA) para a dosagem de citocinas e do ensaio colorimétrico para a dosagem de metabólitos do Oxido Nítrico (NO), o banco de dados, a realização da análise estatística e a redação do texto.

4.2.1 Modelo de estudo

Estudo de coorte prospectivo

4.2.2 Anatomopatológico

Foi realizado pelo Serviço de Patologia Cirúrgica do Hospital de Clínicas – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, nos cortes embebidos em parafina, sendo que os casos foram revisados por um patologista experiente da disciplina de Patologia Especial. A avaliação anatomopatológica e o estadiamento dos casos foram realizados de acordo com os critérios da *International Federation of Gynaecology and Obstetrics* – FIGO.

Na avaliação do grau histológico, os tumores de células da granulosa e os tumores *borderline* foram considerados juntamente com o grupo de tumores bem diferenciados (grau 1). Para os demais tumores, foi realizada uma revisão do grau histológico pelo patologista, sendo divididos em grau 1 (bem diferenciados), grau 2 (moderadamente diferenciados) e grau 3 (pouco diferenciados). Os tumores ovarianos epiteliais foram divididos e classificados conforme o novo modelo de carcinogênese, sendo agrupados em tipo 1 e tipo 2. Os do tipo 1 foram considerados os tumores *borderline* serosos, carcinomas serosos de baixo grau, e carcinomas mucinosos, endometrioides e de células claras. Os do tipo 2, os carcinomas serosos de alto grau, tumores mesodérmicos malignos mistos (carcinosarcomas) e

indiferenciados (KURMAN & SHIH, 2010; ALI-FEHMI et al., 2011; KURMAN & SHIH, 2011).

A classificação histológica dos tumores ovarianos segundo a OMS está descrita no Apêndice B.

4.2.3 Coleta do líquido intracístico

Todos os tumores ovarianos císticos ou mistos foram submetidos à punção logo após a exérese do cisto, para obtenção de 20 ml do conteúdo intracístico (avaliação do microambiente tumoral). Para essa coleta, foram utilizadas seringas (20 ml) e agulhas (18G) estéreis. O líquido coletado por aspiração lenta foi colocado em frasco estéril e transportado em caixa de isopor com gelo até a Disciplina de Farmacologia, onde foi centrifugado a 1500 rpm por 10 minutos. O sobrenadante resultante foi coletado e estocado em alíquotas de 300 µL e armazenado em freezer a -20°C até o dia do experimento para a dosagem de citocinas e metabólitos de NO (TAVARES-MURTA et al., 2004).

4.2.4 Ensaio imunoenzimático (ELISA) para a dosagem de citocinas

As concentrações de IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- α foram quantificadas no sobrenadante das amostras de líquido intracístico por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA). As amostras de sobrenadante foram obtidas a partir do líquido intracísticos, devidamente centrifugado, das pacientes com tumores ovarianos conforme os grupos descritos anteriormente.

Para a captura de anticorpos, foram utilizadas placas de 96 poços revestidas com 50 µL/poço do anticorpo específico para cada uma das citocinas citadas acima, diluídos (1 a 3 µg/µL) em solução tampão de ligação (Na₂HPO₄) e incubados por 16-24 horas em temperatura de 4°C. As placas então foram lavadas três vezes com PBS/Tween 20 a 0,05% e a ligação não específica foi bloqueada por PBS/BSA 1% (100 µL/poço), incubando por 2 horas a 37°C. As amostras e a curva padrão (concentrações conhecidas de citocinas) foram colocadas nas placas (50 µL/poço) e incubadas por 16-24 horas em uma temperatura de 4°C. Para a curva padrão foram utilizados anticorpos recombinantes humanos previamente diluídos em PBS/Tween 20 a 0,05% respeitando as dosagens de 2,5 a 10 mg/mL, respectivamente. As placas foram lavadas e, em seguida, foi adicionado anticorpo anti-citocina biotilado (0,5 a 1 mg/mL) diluído em tampão de bloqueio (PBS/BSA 1%). Após 1 hora de incubação a 37°C as

placas foram lavadas com PBS/Tween 20 e 100 µL/poço do conjugado avidina-peroxidase, previamente diluído em tampão de bloqueio (1:5000), foi adicionado. A placa foi novamente incubada por 30 minutos em temperatura ambiente. Após este período as placas foram lavadas e, em seguida, foi realizada a reação de coloração adicionando-se 100 µL do substrato o-fenilenediamina dihidroclorato-OPD. As placas foram então incubadas novamente em temperatura ambiente por mais 15 a 20 minutos. A reação foi então interrompida adicionando 50 µL de H₂SO₄ a 1M, e a absorbância medida a 490 nm em leitor de placa de ELISA. Os resultados foram expressos em pictogramas de cada citocina dosada por mililitro do sobrenadante do líquido intracístico (BENJAMIM et al, 2000).

4.2.5 Ensaio colorimétrico para a dosagem de metabólitos do Oxido Nítrico (NO)

A quantificação do nitrato nas amostras do líquido intracístico das pacientes conforme o seu grupo foi determinada por meio da redução enzimática do nitrito com a nitrato redutase, conforme descrito por Schmidt et al., em 1989. As amostras (40 µL) foram incubadas com o mesmo volume de tampão redutase (fosfato de potássio 0,1M, pH 7,5) contendo 1 mM de fosfato de nicotinamida ademina dinucleotídeo-NADPH, 10 mM de flavina adenina didinucleotídeo- FAD e 4 UI de nitrato redutase/mL durante 20 horas a 37°C. Uma curva padrão de nitrato foi determinada por incubação de nitrato sódico (10 a 200 µM) com tampão redutase. A quantidade total de metabólitos de NO nessas amostras de líquido cístico foi então determinada pelo ensaio colorimétrico baseado na reação de *Griess* (GREEN et al., 1981). A absorbância foi medida a 546 nm. Os resultados foram expressos como micromol (µM) de nitrito (NO⁻²) nas amostras de líquido intracístico.

4.2.6 Banco de dados

Os dados clínicos, laboratoriais e cirúrgicos das pacientes estudadas foram arquivados em banco de dados específico para o estudo. Foram utilizados o Microsoft Excel[®] e Microsoft Word[®], versão 2013.

4.2.7 Análise estatística

Os dados foram analisados pelo *GraphPad Prism software 6*. De acordo com a distribuição (teste de D'Agostino & Pearson), os resultados com distribuições não normais

foram expressos em medianas e percentis 10%, 25%, 75% e 90%. Os resultados entre os grupos não pareados (tumores não-neoplásicos, neoplasias benignas e malignas) foram analisados através de teste de Kruskal-Wallis, com pós teste de Dunn, em caso de distribuição normal. A avaliação dos fatores prognósticos foi realizada pelo teste de Mann Whitney, com nível de significância menor que 0,05.

4.2.8 Redação do texto

O texto foi redigido conforme a NBR 14724/2011 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

5 RESULTADOS

Apresentam-se as características das pacientes participantes e os resultados obtidos nesse trabalho.

5.1 CARACTERÍSTICAS DAS PACIENTES

Para este estudo, foram avaliadas 110 pacientes diagnosticadas com tumores ovarianos, as quais foram agrupadas em três grupos, sendo o grupo 1 formado pelos tumores não neoplásicos e constituído por 17 pacientes, o grupo 2 formado pelas neoplasias benignas e constituído por 71 pacientes e o grupo 3 formado pelas neoplasias malignas e constituído por 22 pacientes (Anexos A, B e C). As demais variáveis quantitativas e qualitativas das pacientes do estudo estão descritas nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Variáveis quantitativas expressas em mediana (mínimo-máximo) das pacientes com tumores ovarianos atendidas no Hospital das Clínicas da UFTM, Uberaba – MG, no período de 2009 a 2016.

	Tumores Não Neoplásicos (n = 17)	Neoplasia Benigna (n = 71)	Neoplasia Maligna (n = 22)
Idade (anos)	47 (34-87)	49 (11-77)	58 (34-82)
Gestação	4 (0-9)	2 (0-16)	3 (0-11)
Paridade	2 (0-9)	2 (0-13)	2 (0-11)
Idade Menarca (anos)	12 (11-15)	13 (9-18)	13 (9-15)
Idade Menopausa (anos)	45 (37-53)	49 (32-55)	49 (32-60)
Glicose Sérica (mg/dL)	88,20 (73,80-284,50)	92,60 (67,50-160,10)	92,30 (75,00-238,20)
Hemoglobina (g/dL)	13,70 (7,90-15,60)	13,50 (10,80-17,00)	12,65 (8,00-16,70)
Níveis de CA 125 (UI/ml)	17,10 (3,04-53,80)	16,36 (2,45-395,90)	28,91 (2,10-727,40)
Níveis de CA 19,9 (UI/ml)	7,00 (0,50-32,73)	11,20 (0,74-327,10)	10,83 (0,76-389,50)
Níveis de CA 15,3 (UI/ml)	17,57 (6,50-25,40)	15,22 (6,25-37,30)	18,13 (9,55-202,10)
Volume da massa ao ultrassom (mL)	56,10 (7,80-1570,00)	161,45 (5,80-4620,00)	375,00 (83,00-1570,00)
Maior diâmetro da massa ao ultrassom (cm)	5,40 (3,60-14,80)	8,35 (2,10-34,10)	10,90 (6,30-18,90)
Sobrevida livre da doença (SLD) (meses)	-	-	37 (2-80)
Sobrevida global (SG) (meses)	-	-	50 (8-217)
Número de ciclos de quimioterapia	-	-	6 (4-6)

Fonte: O autor, 2017.

Tabela 2 – Variáveis qualitativas das pacientes com tumores ovarianos, atendidas no Hospital das Clínicas da UFTM, Uberaba – MG, no período de 2009 a 2016.

	Tumores Não Neoplásicos (n = 17)		Neoplasias Benignas (n = 71)		Neoplasias Malignas (n = 22)	
	n	%	n	%	n	%
<i>Estado civil</i>						
Casadas	10	58,8	44	62,0	13	59,1
Divorciadas	2	11,8	0	0	0	0
Solteiras	3	17,6	20	28,2	4	18,2
Viúvas	2	11,8	7	9,9	5	22,7
<i>Método Contraceptivo</i>						
Barreira	0	0	5	7,0	0	0
Histerectomia	1	5,9	2	2,8	0	0
Hormonal	2	11,8	7	9,9	0	0
Laqueadura Tubária	4	23,5	24	33,8	5	22,7
Nenhum	10	58,8	33	46,9	17	77,3
<i>Status Hormonal</i>						
Pré-menopausa	10	58,8	45	63,9	7	31,8
Pós-menopausa	7	41,2	26	36,6	15	68,2
<i>Óbito</i>						
Sim	0	0	0	0	9	40,9
Não	17	100	71	100	13	59,1
<i>Terapia Hormonal</i>						
Sim	0	0	0	0	0	0
Não	17	100	71	100	22	0
<i>Tabagismo</i>						
Sim	4	23,5	16	22,5	3	13,6
Não	13	76,5	55	77,5	19	86,4

n = número absoluto de casos, % = número percentual de casos.

Fonte: O autor, 2017.

Em relação ao diagnóstico histológico dos tumores ovarianos, o mais frequente dentre os tumores não neoplásicos foi o cisto simples (47,1%) (Tabela 3).

Tabela 3 – Diagnóstico Histológico dos tumores das pacientes com cistos não neoplásicos (n=17), atendidas no Hospital das Clínicas da UFTM, Uberaba – MG.

Diagnóstico Histológico dos Tumores Não Neoplásicos	n	%
Cisto de Inclusão	1	5,9
Corpo Lúteo Hemorrágico	1	5,9
Cisto Folicular	3	17,6
Cisto Teca Luteínico	4	23,5
Cisto Simples	8	47,1

n = número absoluto de casos, % = número percentual de casos.

Fonte: O autor, 2017.

Para as neoplasias benignas, o mais frequente foi o cistoadenoma seroso (43,6%) (Tabela 4).

Tabela 4 – Diagnóstico Histológico dos tumores das pacientes com Neoplasia Ovariana Benigna (n=71), atendidas no Hospital das Clínicas da UFTM, Uberaba – MG.

Diagnóstico Histológico	n	%
Cistoadenoma Mucinoso	20	28,2
Teratoma Cístico Maduro	20	28,2
Cistoadenoma Seroso	31	43,6

n = número absoluto de casos, % = número percentual de casos.

Fonte: O autor, 2017.

E quando agrupamos as neoplasias ovarianas malignas, o mais frequente foi o cistoadenocarcinoma seroso (27,3%) (Tabela 5).

Tabela 5 – Diagnóstico Histológico dos tumores das pacientes com Neoplasia Ovariana Maligna (n=22), atendidas no Hospital das Clínicas da UFTM, Uberaba – MG.

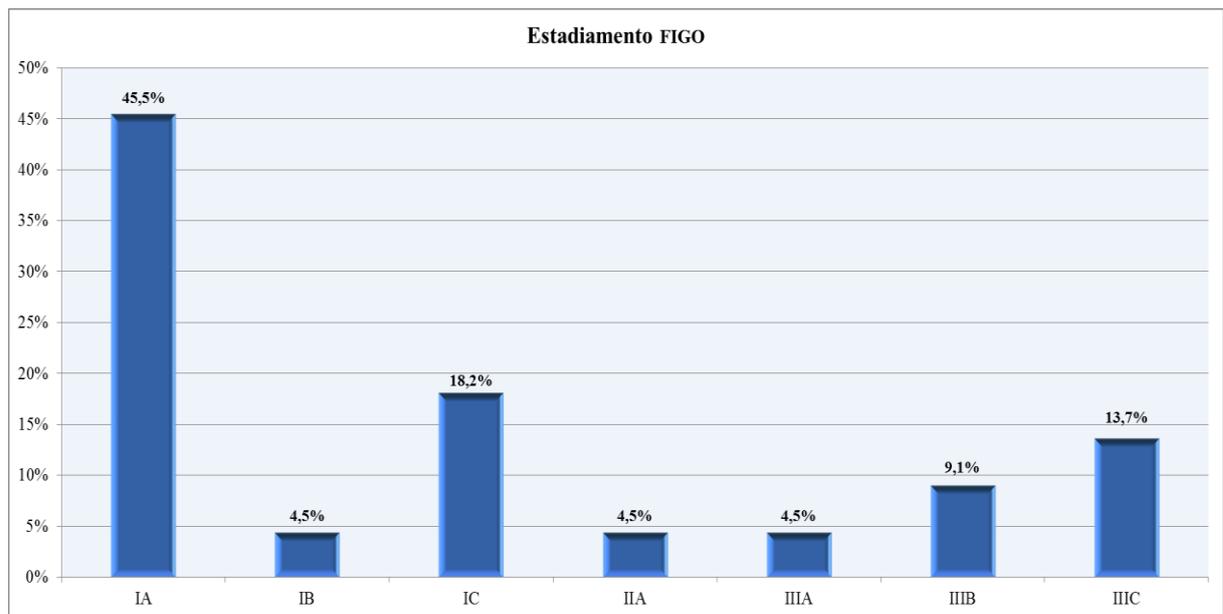
Diagnóstico Histológico das Neoplasias Malignas	n	%
Adenocarcinoma Endometrióide	1	4,5
Teratoma Imaturo	1	4,5
Tumor Seroso <i>Borderline</i>	2	9,1
Adenocarcinoma de Células Claras	2	9,1
Tumor de Células da Granulosa	4	18,2
Tumor Mucinoso <i>Borderline</i>	6	27,3
Cistoadenocarcinoma Seroso	6	27,3

n = número absoluto de casos, % = número percentual de casos.

Fonte: O autor, 2017.

O estadiamento dos casos dos tumores malignos de ovário foi realizado de acordo com os critérios da International Federation of Gynaecology and Obstetrics – FIGO, tendo como resultado em nosso estudo pacientes com estadiamento IA 10 (45,5%), IB 1 (4,5%), IC 4 (18,2%), IIA 1 (4,5%), IIIA 1 (4,5%), IIIB 2 (9,1%), IIIC 3 (13,7%) (Figura 1).

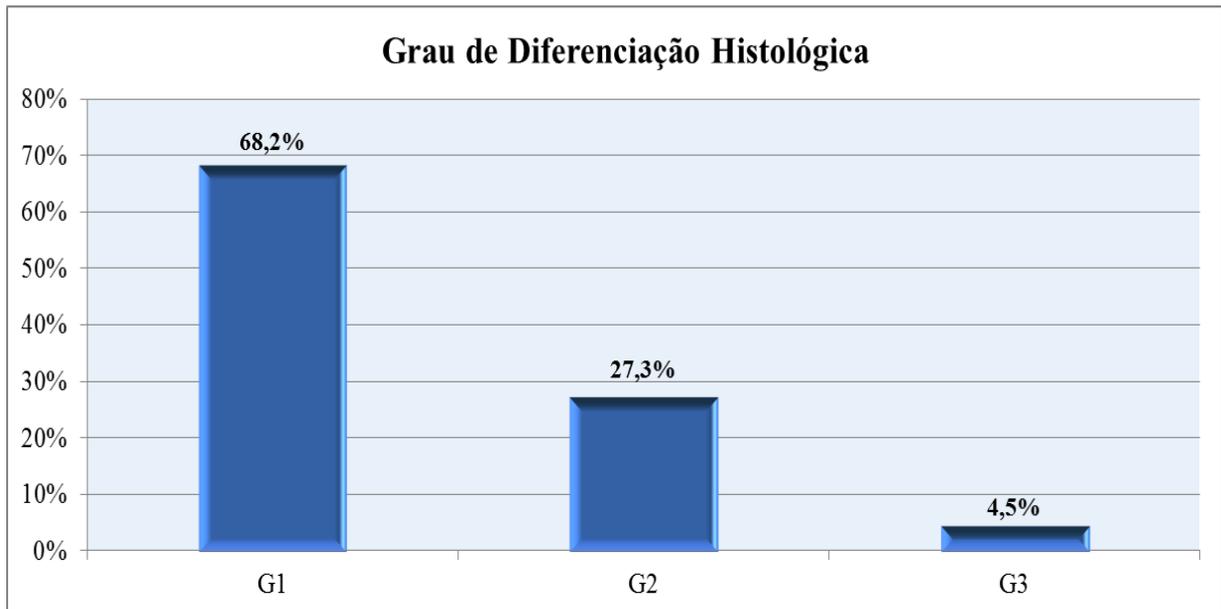
Figura 1 – Frequência (%) dos estadiamentos no grupo de pacientes com Neoplasias Malignas de Ovário de acordo com a Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO).



Fonte: O autor, 2017.

Após revisão do grau histológico dos tumores malignos de ovário pelo patologista, foram divididos em grau 1 (G1 - bem diferenciados), grau 2 (G2 - moderadamente diferenciados) e grau 3 (G3 - pouco diferenciados). A frequência de graus em nosso estudo foi: 15 pacientes com G1 (68,2%), 6 pacientes com G2 (27,3%) e 1 paciente com G3 (4,5%) (Figura 2).

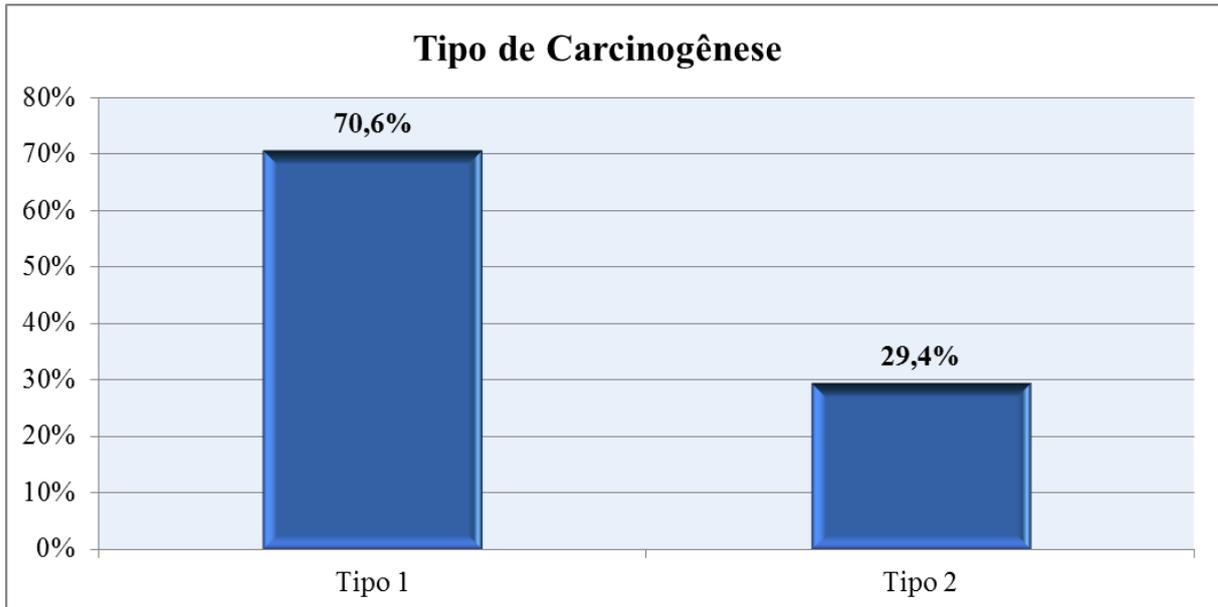
Figura 2 – Grau de diferenciação histológica das neoplasias malignas.



Fonte: O autor, 2017.

Os tumores ovarianos epiteliais foram divididos e classificados conforme o novo modelo de carcinogênese, sendo agrupados em tipo 1 e tipo 2. Obtivemos frequência de 12 tumores do Tipo 1 (70,6%) e 5 tumores com Tipo 2 (29,4%) (Figura 3).

Figura 3 – Tipo de Carcinogênese das neoplasias ovarianas malignas epiteliais.



Fonte: O autor, 2017.

5.2 QUANTIFICAÇÕES DOS METABÓLITOS DE ÓXIDO NÍTRICO ($\text{NO}_{2+} + \text{NO}_3$) E DAS CITOCINAS (IL-2, IL-5, IL-8, IL-10 E $\text{TNF-}\alpha$) NO LÍQUIDO INTRACÍSTICO DAS PACIENTES COM TUMORES NÃO NEOPLÁSICOS, NEOPLASIAS BENIGNAS E MALIGNAS DE OVÁRIO.

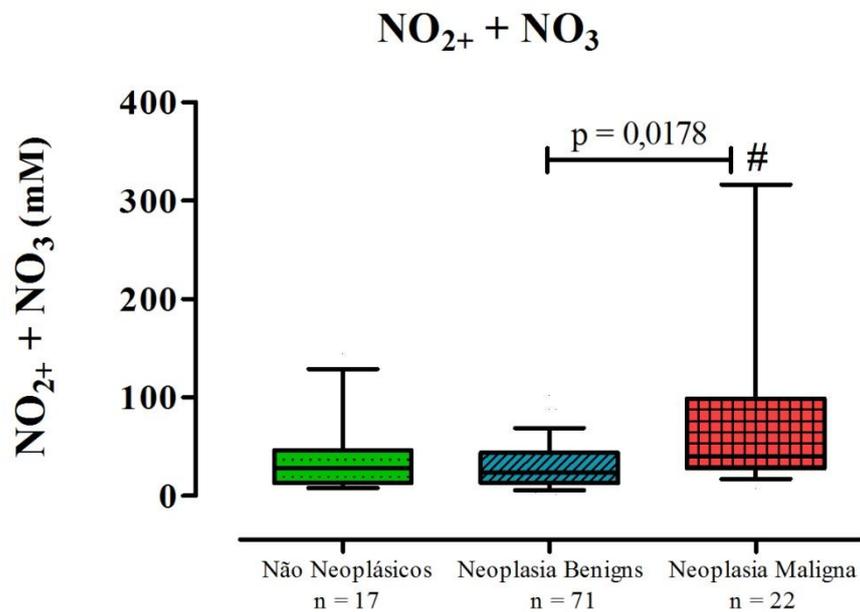
Os níveis dos metabólitos do óxido nítrico ($\text{NO}_{2+} + \text{NO}_3$) e as citocinas (IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 $\text{TNF-}\alpha$) foram quantificados no líquido intracístico de todas as 110 pacientes estudadas. A Tabela 6 mostra as diferenças na quantificação dos metabólitos do NO pela reação de *Griess* e das citocinas pelo método de ELISA, entre os tumores não neoplásicos, neoplasia benigna e maligna de ovário. Houve um aumento dos níveis dos metabólitos do NO no grupo de neoplasias malignas de ovário quando comparado ao grupo de neoplasias benignas ($p = 0,0217$; Kruskal-Wallis + Dunn) (Figura 4). Dentre as citocinas estudadas, houve um aumento dos níveis de IL-6 ($p = 0,0005$; Kruskal-Wallis + Dunn) (Figura 5C) e de IL-8 ($p = 0,0098$; Kruskal-Wallis + Dunn) (Figura 5D) no grupo de neoplasias malignas de ovário quando comparado ao grupo de neoplasias benignas. Para as demais citocinas, não houve significância estatística nesta análise.

Tabela 6 – Diferenças na quantificação dos metabólitos do NO ($\text{NO}_{2+} + \text{NO}_3$) pela reação de Griess e das citocinas pelo método de ELISA e entre os tumores não neoplásicos, neoplasia benigna e maligna de ovário.

	Tumores Não Neoplásicos (n=17)	Neoplasia Benigna (n=71)	Neoplasia Maligna (n=22)
NO ($\text{NO}_{2+} + \text{NO}_3$)	27,80 (13,15-46,47)	23,78 (13,30-44,00) [#]	40,01 (27,88-99,25)[#]
IL-2	10,80 (4,40-12,01)	12,59 (7,70-38,00)	11,40 (8,20-2,80)
IL-5	9,10 (6,40-18,86)	11,52 (5,30-21,22)	12,34 (6,98-39,11)
IL-6	330,20 (27,24-614,70)	50,67 (8,25-349,60)*	383,30 (283,90-881,80)*
IL-8	108,60 (62,77-207,00)	129,12 (51,29-195,80)**	168,90 (138,40-270,20)**
IL-10	33,90 (15,55-89,50)	23,20 (11,30-52,54)	56,55 (15,20-155,90)
TNF- α	8,30 (6,70-9,24)	9,50 (6,20-12,31)	8,70 (6,45-11,74)

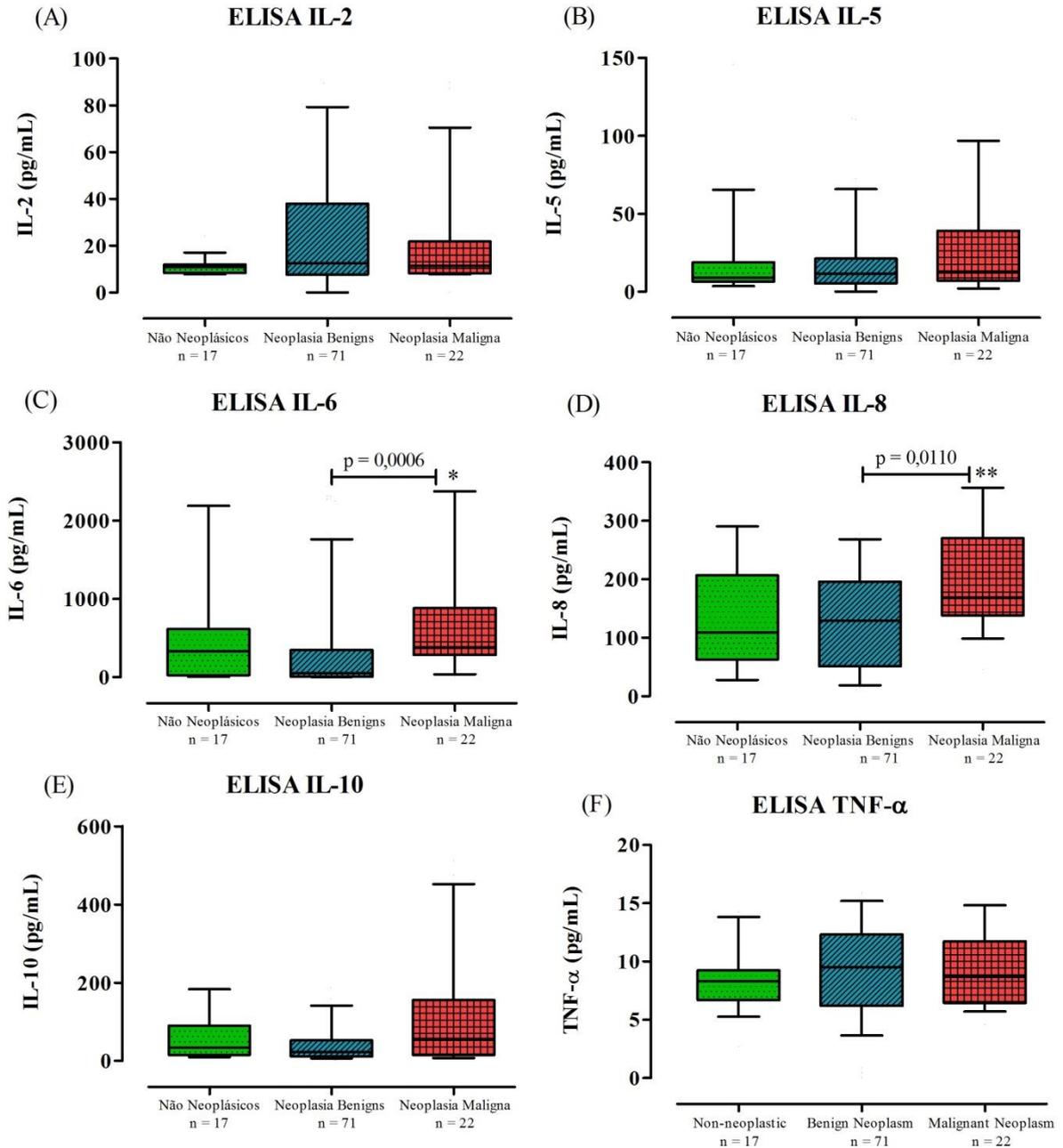
Os valores dos metabólitos de óxido nítrico e das citocinas foram expressos em mediana (percentil 25% - percentil 75%). Teste de Kruskal-Wallis + Pós Teste de Dunn. [#]p =0,0178; *p=0,0006; **p =0,0110.
Fonte: O autor, 2017.

Figura 4 – Diferenças na quantificação dos metabólitos do NO ($\text{NO}_{2+} + \text{NO}_3$) pela reação de Griess entre os tumores não neoplásicos, neoplasia benigna e maligna de ovário. Os valores foram expressos em mediana e percentis (10%, 25%, 75% e 90%).



Fonte: O autor, 2017.

Figura 5 – Diferenças na quantificação das citocinas pelo método de ELISA entre os tumores não neoplásicos, neoplasia benigna e maligna de ovário. Os valores foram expressos em mediana e percentis (10%, 25%, 75% e 90%).



Fonte: O autor, 2017.

5.3 RELAÇÕES DOS METABÓLITOS DO NO ($\text{NO}_{2+} + \text{NO}_3$) E DAS CITOCINAS (IL-2, IL-5, IL-8, IL-10 E TNF- α) COM OS FATORES PROGNÓSTICOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS DAS NEOPLASIAS MALIGNAS DE OVÁRIO.

A Tabela 7 exhibe a relação dos metabólitos do NO e das citocinas com os fatores prognósticos clínicos e patológicos. Houve aumento dos níveis de IL-2 em tumores com grau histológico 1 quando comparado ao grupo de tumores com graus histológicos 2 e 3 ($p = 0,0112$; Teste Mann Whitney) (Figura 7B). Os níveis de IL-8 estão mais aumentados nas pacientes com sobrevida livre de doença (SDL) menor que 36 meses ($p = 0,0288$; Teste Mann Whitney) (Figura 10D). TNF- α foi mais expresso em tumores com modelo de carcinogênese Tipo 2 ($p = 0,0364$; Teste Mann Whitney) (Figura 12C). Para esta análise de fatores prognósticos clínicos e patológicos, as demais citocinas não obtiveram significância estatística.

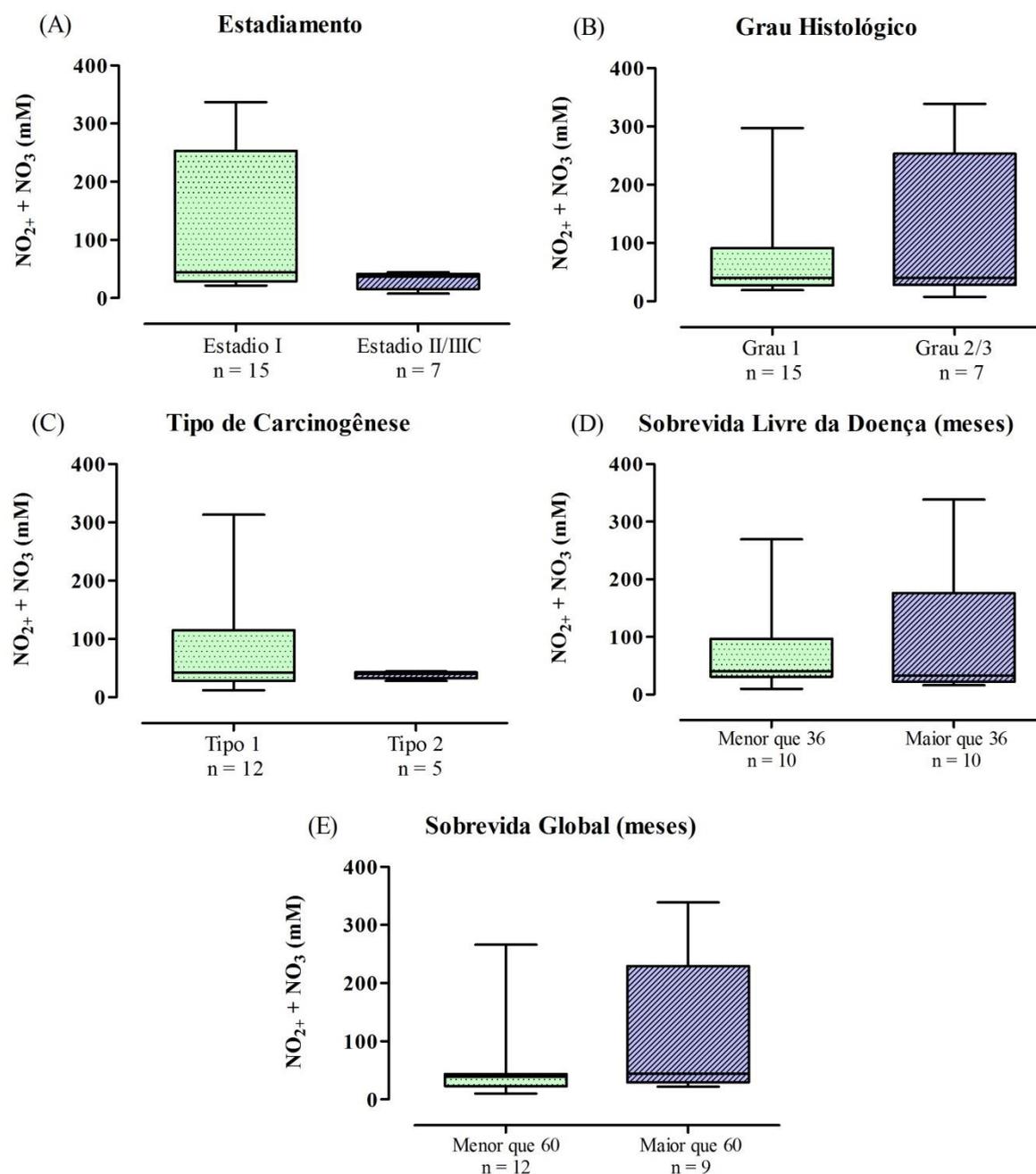
Tabela 7 – Relação dos metabólitos do NO (NO₂₊ + NO₃) e das citocinas e fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário.

		NO (NO ₂₊ + NO ₃)	IL-2	IL-5	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- α
Estadiamento	I (n=15)	44,70 (29,13-253,20)	10,60 (8,20-17,23)	12,30 (9,80-69,71)	373,70 (285,50-484,00)	165,30 (129,00-269,7)	48,90 (19,40-114,30)	8,50 (6,30-11,13)
	II -IIIC (n=7)	36,80 (15,75-41,23)	12,78 (8,20-31,27)	12,49 (2,29-28,91)	442,50 (159,00-2342,00)	269,8 (166,10-279,00)	95,02 (6,33-474,70)	9,20 (7,90-13,30)
Grau histológico	1 (n=15)	39,89 (27,50-91,40)	13,0 (10,20-31,27)*	12,30 (7,56-22,00)	392,90 (159,00-2075,00)	255,20 (156,10-270,9)	48,90 (13,47-95,02)	8,50 (6,50-12,46)
	2 e 3 (n=7)	40,12 (28,00-253,20)	8,20 (7,89-9,30)	16,30 (2,29-97,21)	371,10 (321,10-476,80)	166,10 (102,00-170,50)	151,00 (19,40-474,70)	8,80 (5,80-10,11)
Tipo de Carcinogênese	1 (n=12)	42,30 (27,91-115,00)	13,15 (10,30-30,90)	11,53 (5,29-19,62)	362,40 (190,60-1667,00)	200,10 (138,10-269,9)	24,35 (14,20-77,33)	7,90 (5,80-10,55)
	2 (n=5)	40,12 (32,40-42,72)	8,30 (7,97-14,79)	12,21 (4,93-56,76)	346,70 (165,10-459,70)	167,40 (113,00-333,80)	389,80 (78,67-493,00)	10,11 (9,00-15,43)**
SLD (meses)	≤ 36 (n=10)	40,56 (30,78-96,83)	9,75 (7,95-22,14)	12,34 (4,50-29,65)	360,20 (253,90-433,90)	270,40 (163,80-306,60)***	56,55 (11,86-212,80)	8,20 (5,75-13,32)
	> 36 (n=10)	32,97 (21,86-176,10)	12,44 (9,33-2,74)	21,29 (8,30-90,97)	449,00 (270,90-2138,00)	160,70 (121,00-236,10)	57,85 (18,48-128,40)	8,70 (6,65-11,74)
SG (meses)	≤ 60 (n=12)	39,23 (22,85-43,83)	12,89 (8,63-18,63)	12,34 (5,81-21,65)	402,40 (280,60-2263,00)	211,30 (145,40-276,70)	77,12 (16,48-141,80)	9,45 (6,30-13,14)
	> 60 (n=9)	44,20 (29,60-229,40)	9,70 (8,10-21,69)	16,30 (6,79-92,55)	360,80 (188,50-449,00)	165,30 (113,10-250,30)	28,90 (17,55-336,40)	7,90 (6,40-9,00)

Os valores foram expressos em mediana (percentil 25% - percentil 75%). *p = 0,0112 comparado a grau histológico 1; **p = 0,0364 comparando ao modelo de carcinogênese; ***p = 0,0288 comparado a SLD menor que 36 (Teste Mann Whitney).

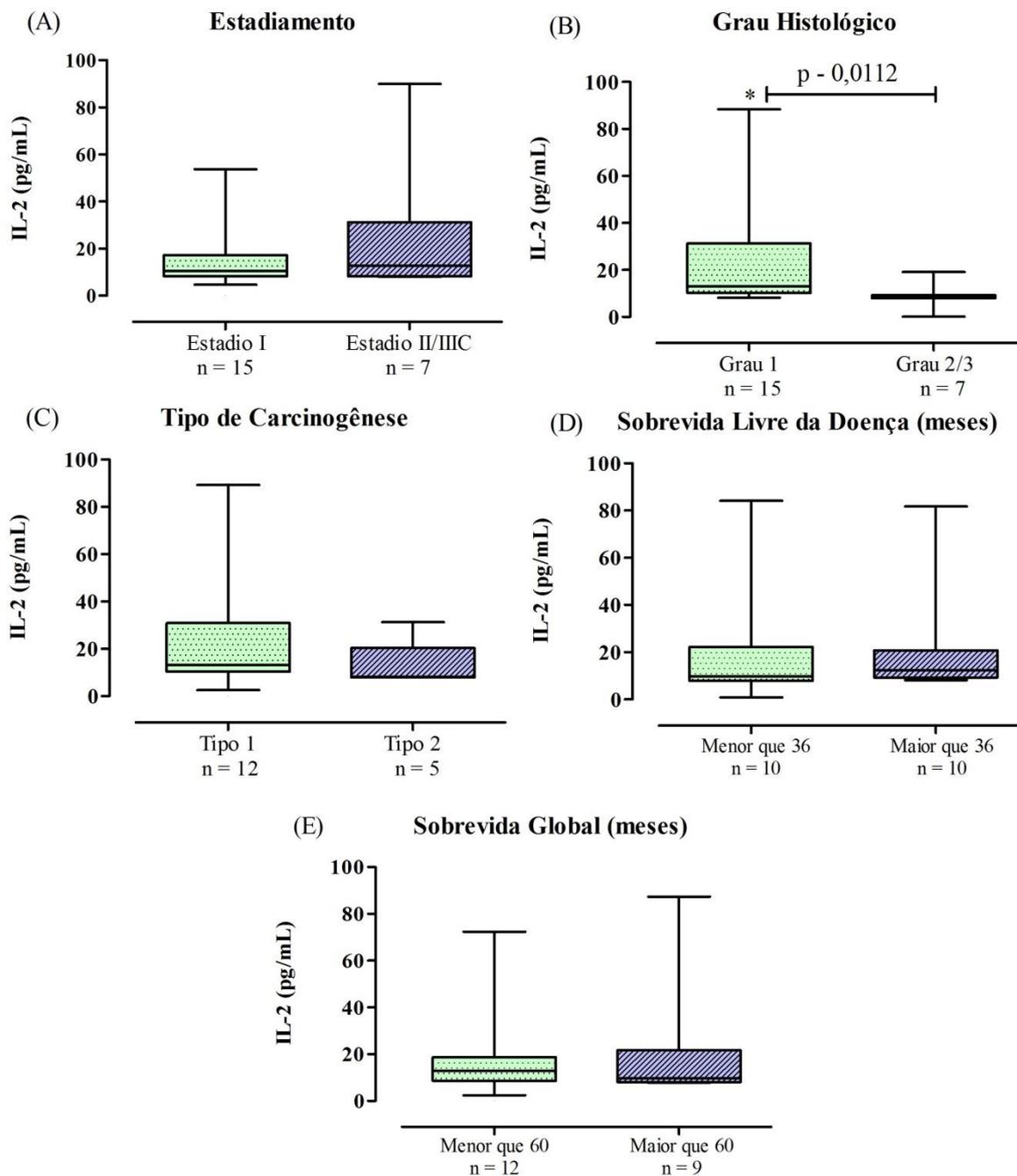
Fonte: O autor, 2017.

Figura 6 – Relação de NO ($\text{NO}_{2+} + \text{NO}_3$) (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney).



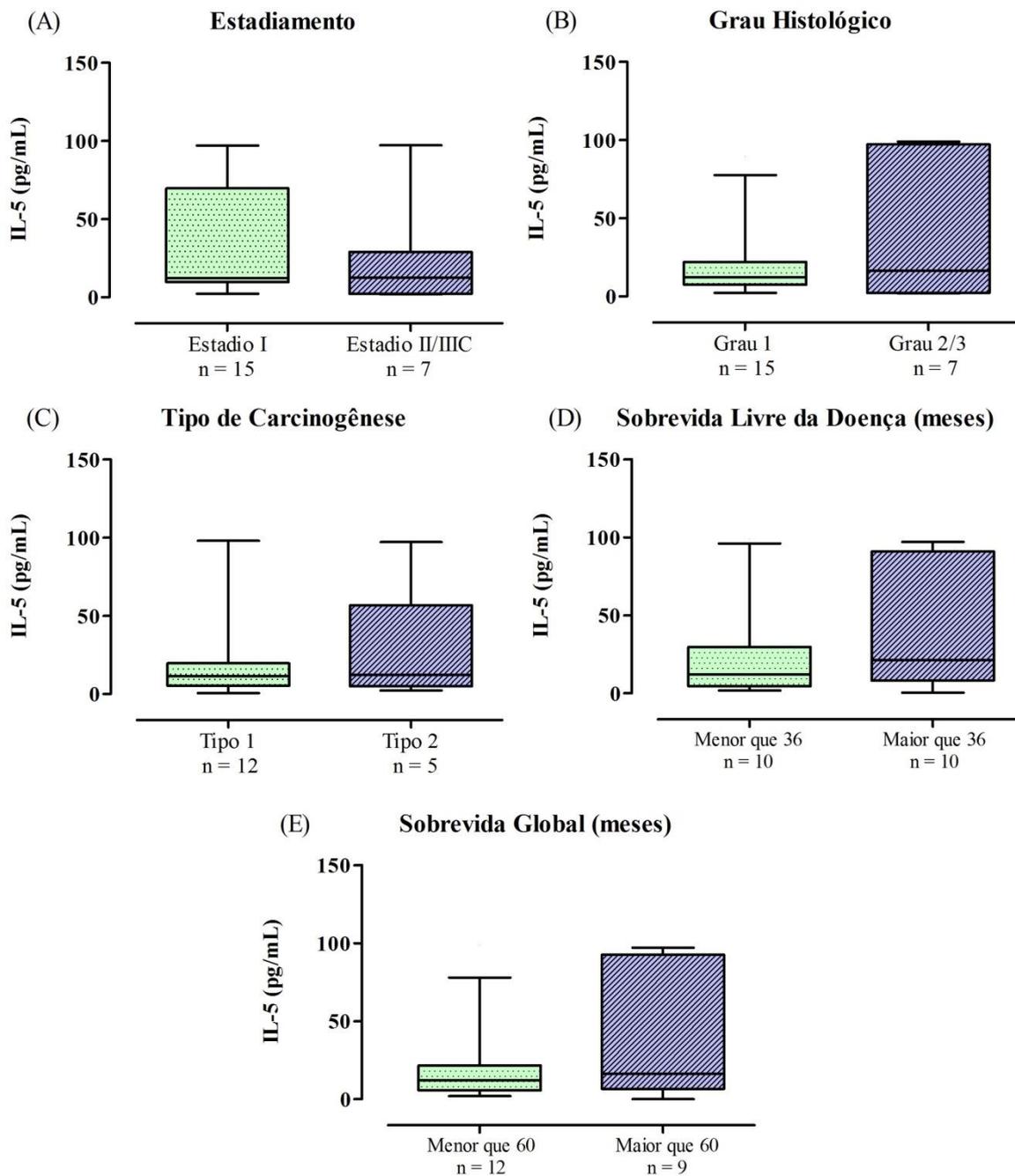
Fonte: O autor, 2017.

Figura 7 – Relação de IL-2 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney).



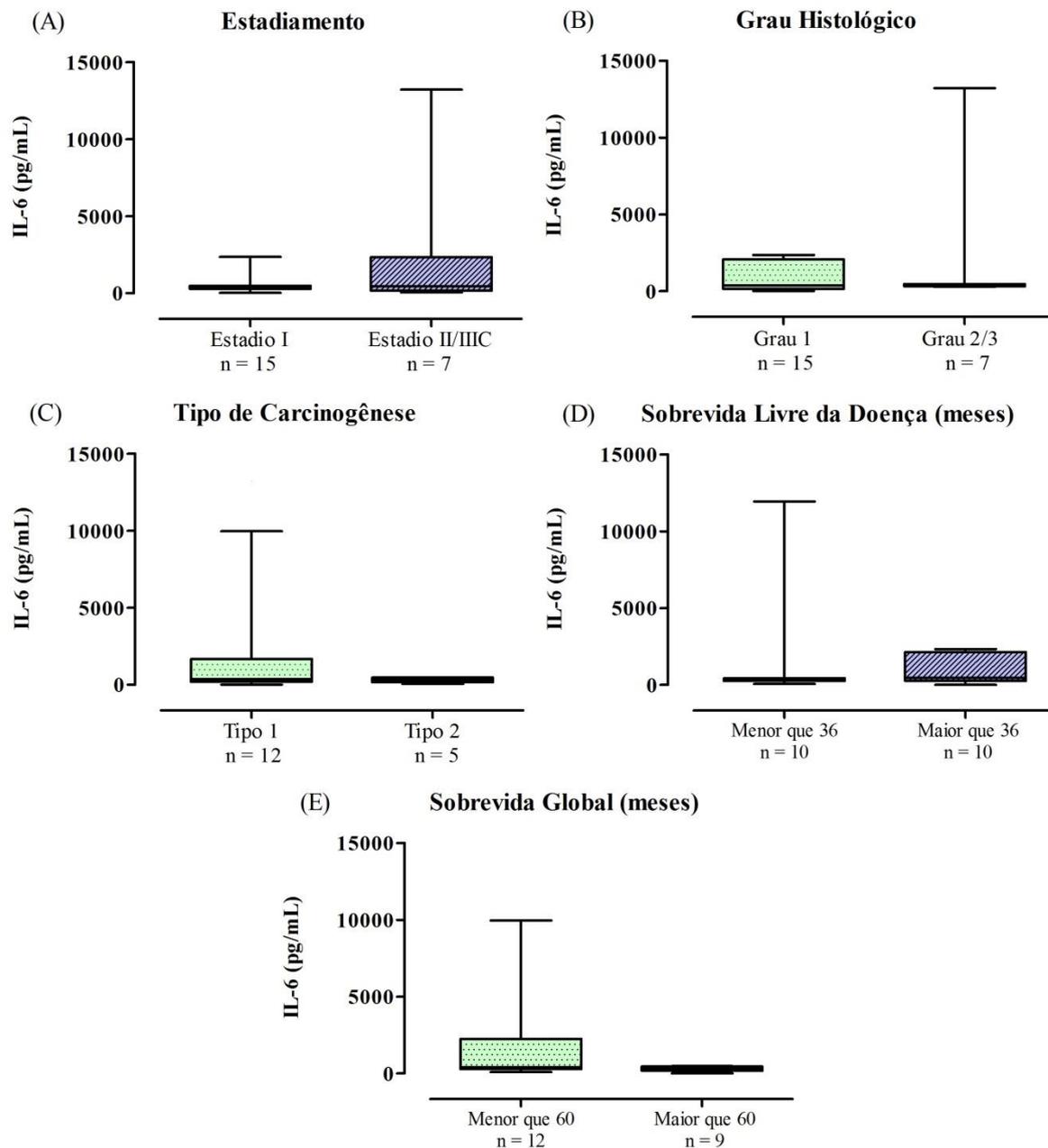
Fonte: O autor, 2017.

Figura 8 – Relação de IL-5 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney).



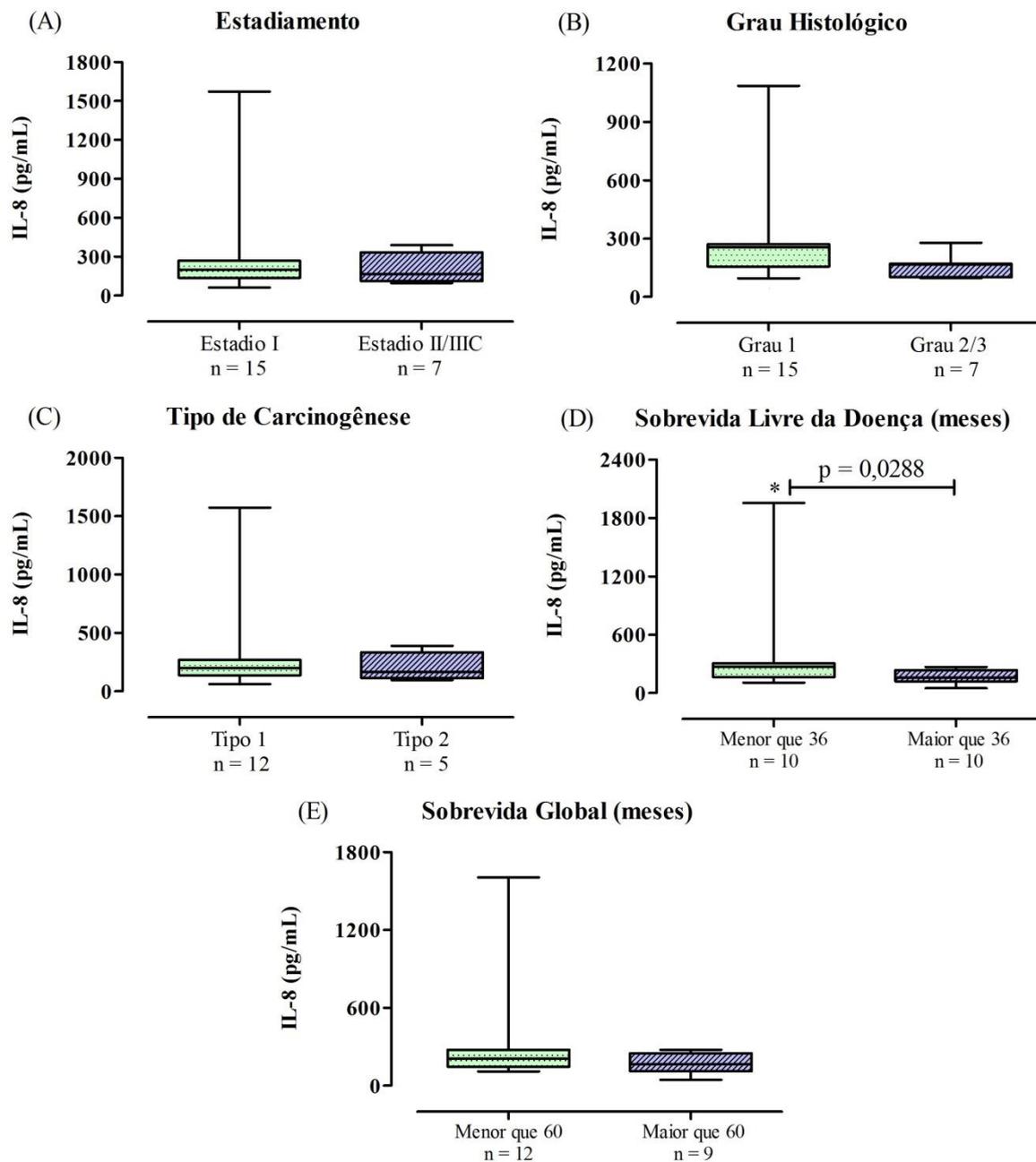
Fonte: O autor, 2017.

Figura 9 – Relação de IL-6 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney).



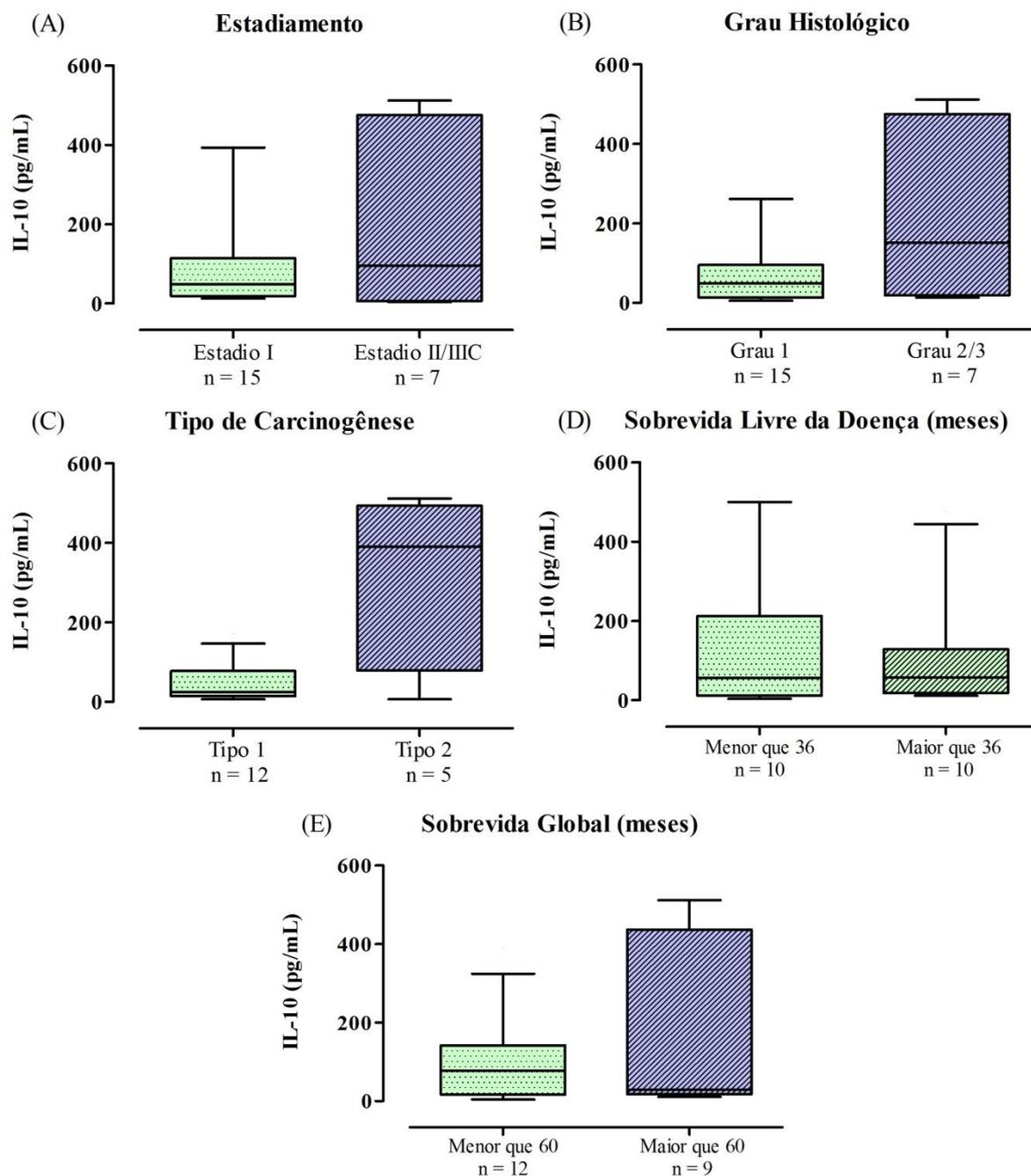
Fonte: O autor, 2017.

Figura 10 – Relação de IL-8 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney).



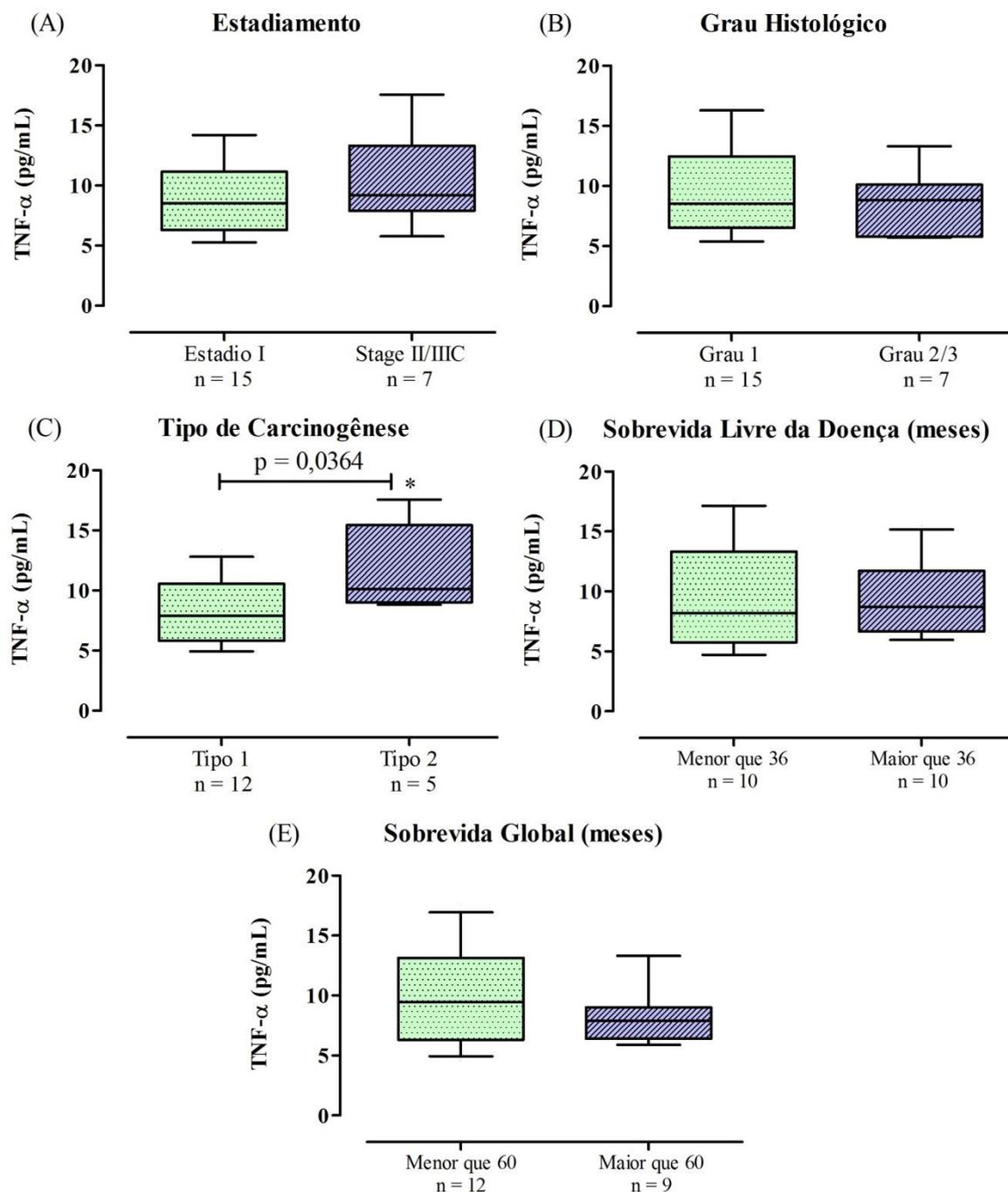
Fonte: O autor, 2017.

Figura 11 – Relação de IL-10 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney).



Fonte: O autor, 2017.

Figura 12 – Relação de TNF- α (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney).



Fonte: O autor, 2017.

5.4 RELAÇÕES DOS METABÓLITOS DO NO ($\text{NO}_{2+} + \text{NO}_3$) E DAS CITOCINAS COM OS FATORES PROGNÓSTICOS LABORATORIAIS DAS NEOPLASIAS MALIGNAS DE OVÁRIO.

A Tabela 8 apresenta a relação dos metabólitos do NO e das citocinas com os fatores prognósticos laboratoriais nas neoplasias malignas de ovário. Níveis aumentados dos metabólitos de NO foram encontrados nas pacientes com RNL menor que 2,6 ($p = 0,0443$; Teste Mann Whitney) (Figura 13A), assim como em pacientes com dosagens de CA 19.9 maior que 35 UI/mL ($p = 0,0112$; Teste Mann Whitney) (Figura 13F). Os níveis de IL-5 foram encontrados mais aumentados em pacientes com glicemia sérica normal (menor que 100 mg/dL ($p = 0,0245$; Teste Mann Whitney) (Figura 15D). O aumento de IL-6 foi encontrado em pacientes com dosagem de hemoglobina menor que 12 g/dL ($p = 0,0232$; Teste Mann Whitney) (Figura 16C). A IL-8 teve um maior aumento em pacientes com RNL maior que 2,6 ($p = 0,0443$; Teste Mann Whitney) (Figura 17A). Os níveis de IL-10 estiveram aumentados em pacientes com dosagens de CA 19.9 menor que 35 UI/mL ($p = 0,0019$; Teste Mann Whitney) (Figura 18F). O TNF- α aumentou nas pacientes com RPL menor que 300 ($p = 0,0420$; Teste Mann Whitney) (Figura 19B).

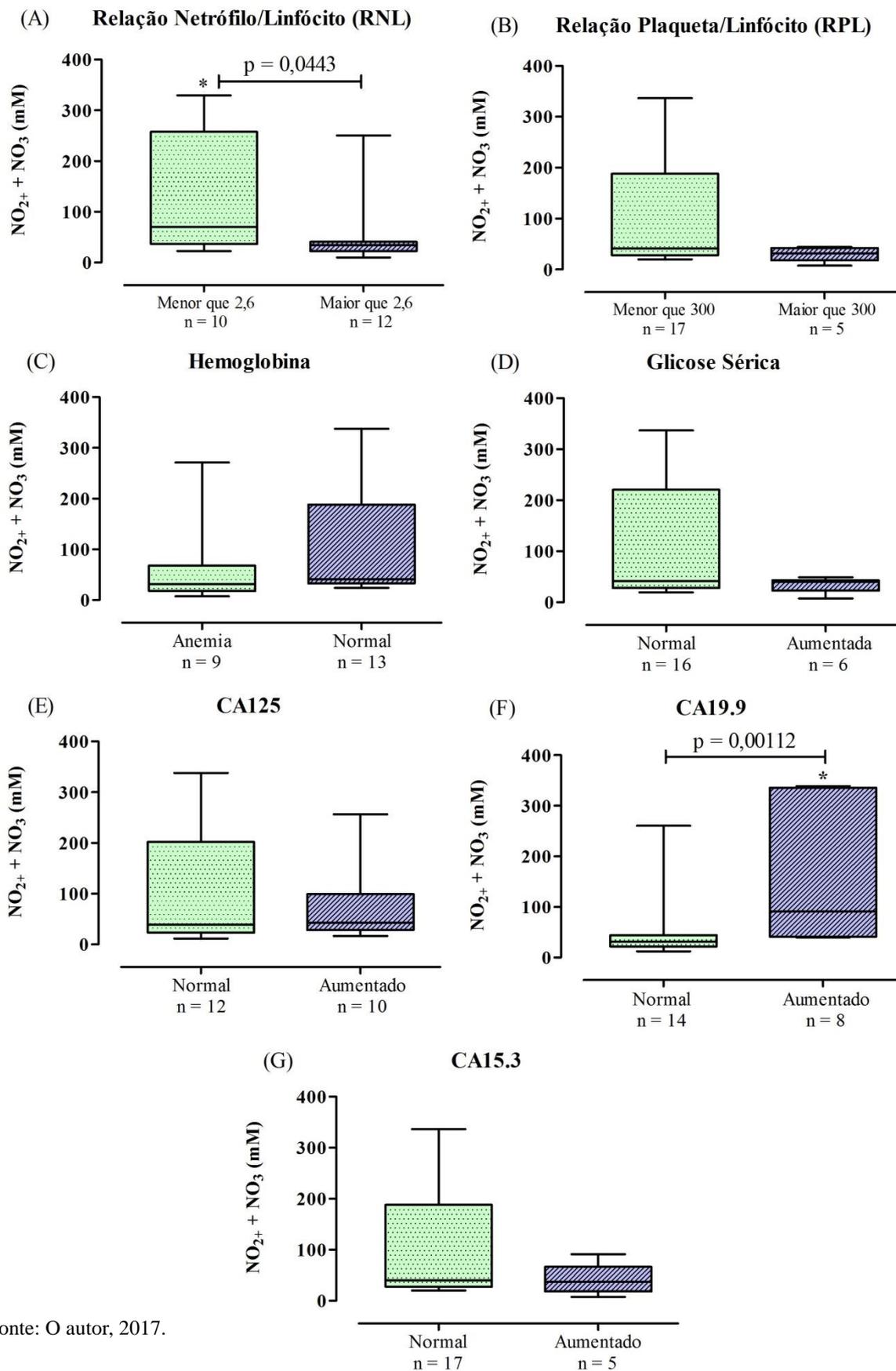
Tabela 8 – Relação dos metabólitos de NO (NO₂+ + NO₃) e das citocinas com os fatores prognósticos laboratoriais das neoplasias malignas de ovário.

		NO (NO ₂ + + NO ₃)	IL-2	IL-5	IL-6	IL-8	IL-10	TNF-α
RNL	≤ 2,6 (n=10)	70,15 (36,97-257,80)[#]	10,15 (7,97-30,14)	10,47 (4,87-34,57)	353,80 (216,80-444,30)	156,40 (122,20-239,80)	26,85 (15,14-162,50)	8,20 (6,35-10,37)
	> 2,6 (n=12)	34,25 (22,85-40,90)	12,89 (8,46-18,63)	16,54 (8,75-59,51)	417,70 (301,90-2263,00)	262,50 (166,40-277,00)⁺	92,52 (15,13-165,80)	9,00 (6,70-13,14)
RPL	≤ 300 (n=17)	41,23 (28,32-188,00)	12,10 (8,20-23,50)	12,30 (8,68-59,15)	360,80 (282,20-1280,00)	165,30 (129,00-269,70)	64,20 (17,55-142,50)	9,20 (7,30-12,90)^o
	> 300 (n=5)	31,70 (17,88-42,30)	10,20 (8,55-54,54)	12,37 (2,08-41,10)	392,9 (266,30-6832,00)	270,90 (166,80-1203,00)	48,90 (8,63-274,50)	6,30 (5,20-8,35)
Hemoglobina (g/dL)	≤ 12 (n=9)	31,70 (18,44-68,05)	12,78 (8,85-24,43)	12,37 (3,76-24,75)	442,50 (383,30-2366,00)*	269,70 (161,40-274,90)	64,20 (13,59-132,60)	8,50 (6,04-11,80)
	> 12 (n=13)	41,23 (32,97-188,00)	10,60 (8,10-22,29)	12,30 (6,68-92,55)	346,70 (165,10-449,00)	165,30 (115,50-262,60)	28,90 (17,55-280,20)	8,80 (6,60-12,40)
Glicemia (mg/dL)	≤ 100 (n=16)	41,38 (27,91-220,60)	10,40 (8,20-13,23)	18,44 (10,33-84,47)**	407,10 (347,80-1677,00)	200,10 (145,20-269,90)	75,50 (20,53-156,60)	8,70 (6,35-12,22)
	> 100 (n=6)	40,01 (22,94-43,15)	25,19 (8,95-45,96)	5,67 (2,18-12,28)	219,00 (40,09-3637,00)	166,80 (129,00-306,60)	21,30 (5,64-210,70)	8,35 (7,36-11,98)
CA125 (UI/mL)	≤ 35 (n=12)	39,23 (23,45-202,10)	12,70 (7,97-28,24)	12,40 (5,29-84,47)	336,10 (189,00-414,10)	165,70 (132,10-259,90)	26,85 (15,13-108,20)	7,30 (6,00-9,74)
	> 35 (n=10)	42,72 (28,85-99,25)	10,40 (8,35-17,19)	11,56 (6,98-23,73)	459,70 (367,00-2142,00)	262,50 (141,80-306,00)	79,61 (15,14-246,70)	10,17 (8,73-12,67)
CA19.9 (UI/mL)	≤ 35 (n=14)	31,70 (22,10-44,20)	12,44 (7,97-17,70)	14,30 (3,41-39,11)	407,10 (283,90-2138,00)	166,80 (129,00-269,80)	104,70 (27,88-391,80)***	9,00 (6,20-12,67)
	> 35 (n=8)	91,40 (41,23-335,90)^{##}	10,40 (8,73-30,89)	11,56 (8,22-70,17)	367,30 (207,00-470,80)	220,10 (156,20-361,80)	14,59 (7,42-41,53)	8,55 (6,70-10,55)
CA15.3 (UI/mL)	≤ 31 (n=17)	40,12 (27,75-188,00)	10,20 (8,10-15,27)	12,37 (7,52-49,31)	360,80 (282,20-436,80)	167,40 (135,30-270,40)	64,20 (21,65-132,60)	8,50 (6,40-11,30)
	≤ 31 (n=5)	36,80 (18,44-66,32)	19,10 (10,60-30,52)	10,75 (4,71-59,61)	2075,00 (264,00-7806,00)	255,20 (131,60-329,60)	13,70 (9,90-322,70)	11,13 (7,50-14,53)

Os valores foram expressos em mediana (percentil 25% - percentil 75%). [#]p = 0,0443 comparado a RNL ≤ 2,6; ⁺p = 0,0443 comparado a RNL > 2,6; ^op = 0,0420 comparado a RPL > 300; *p = 0,0232 comparado a Hb ≤ 12; **p = 0,0245 comparado a glicemia ≤ 100; ***p = 0,0019 comparado a CA 19.9 ≤ 35; ^{##}p = 0,0112 comparado a CA 19.9 > 35; (Teste Mann Whitney).

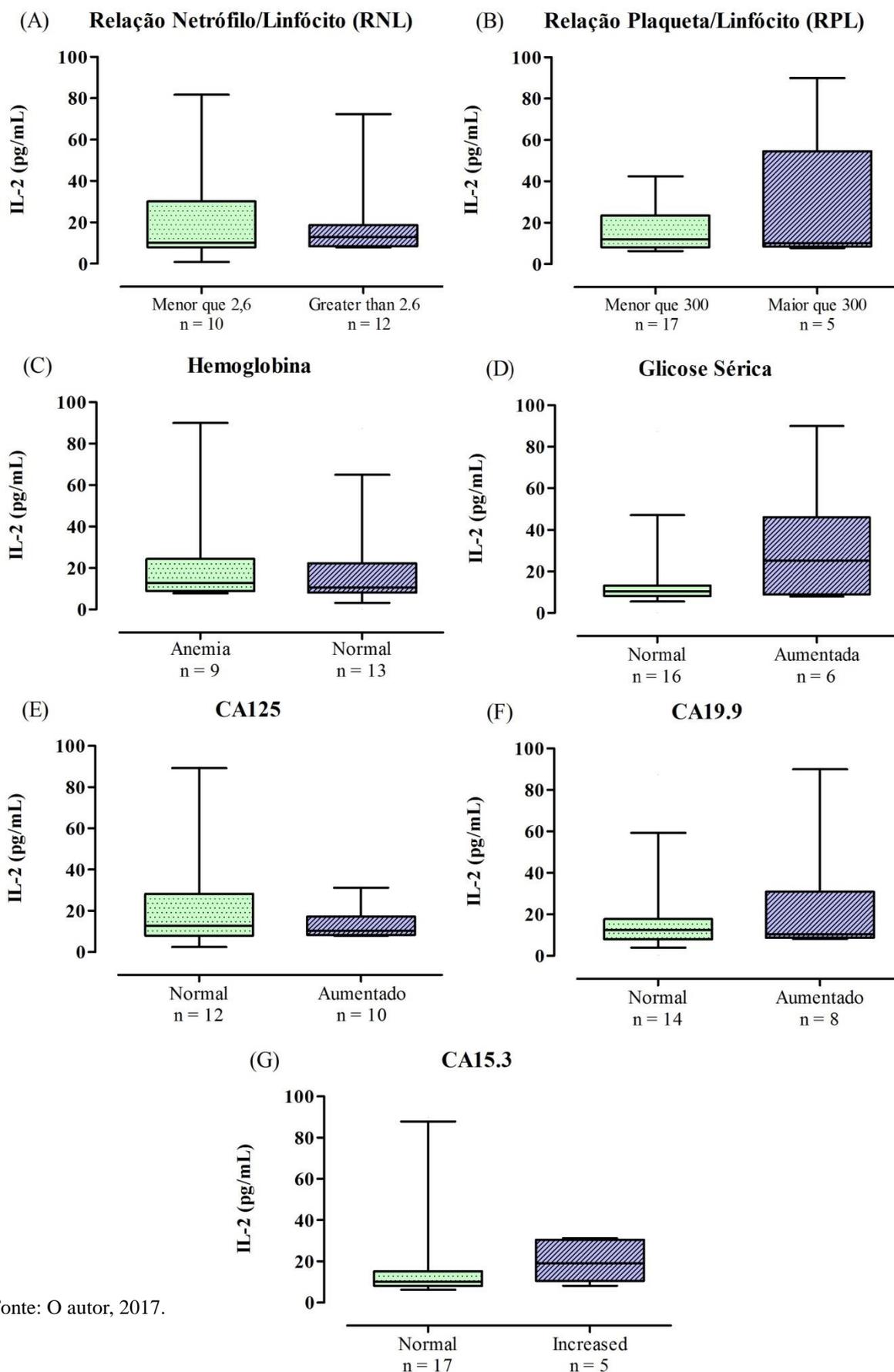
Fonte: O autor, 2017.

Figura 13 – Relação de NO ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$) (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney).



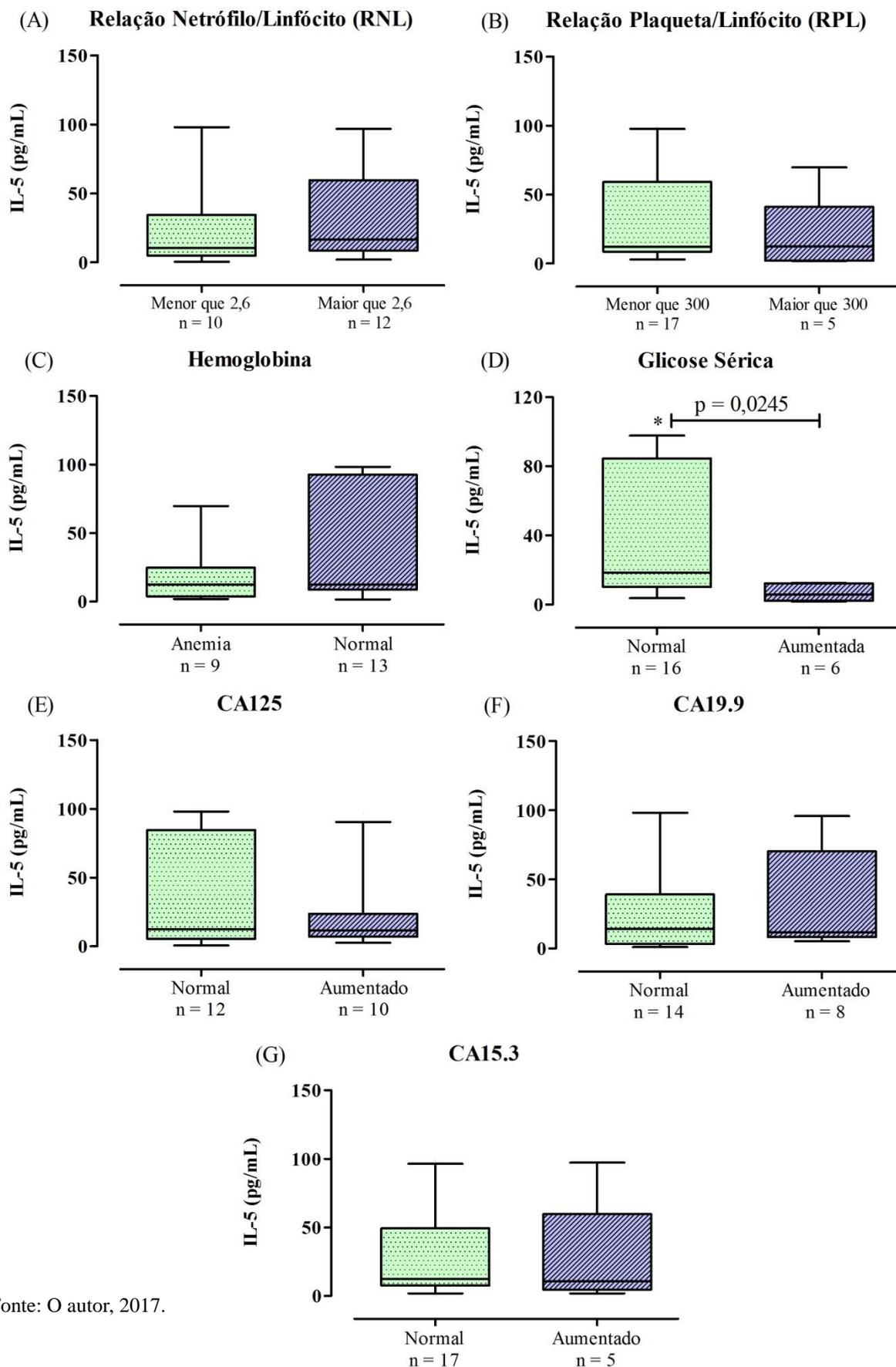
Fonte: O autor, 2017.

Figura 14 – Relação de IL-2 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney).



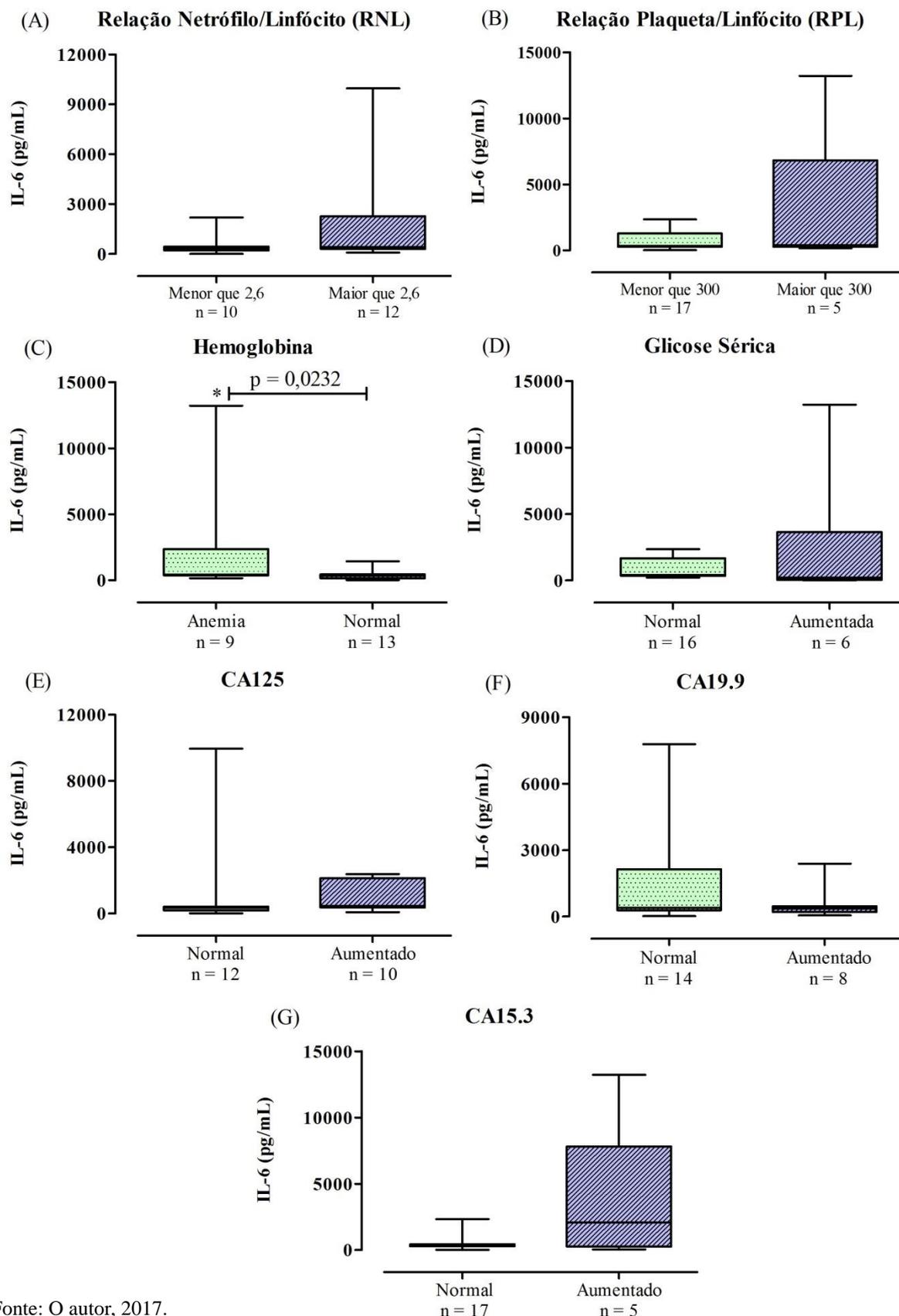
Fonte: O autor, 2017.

Figura 15 – Relação de IL-5 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney).



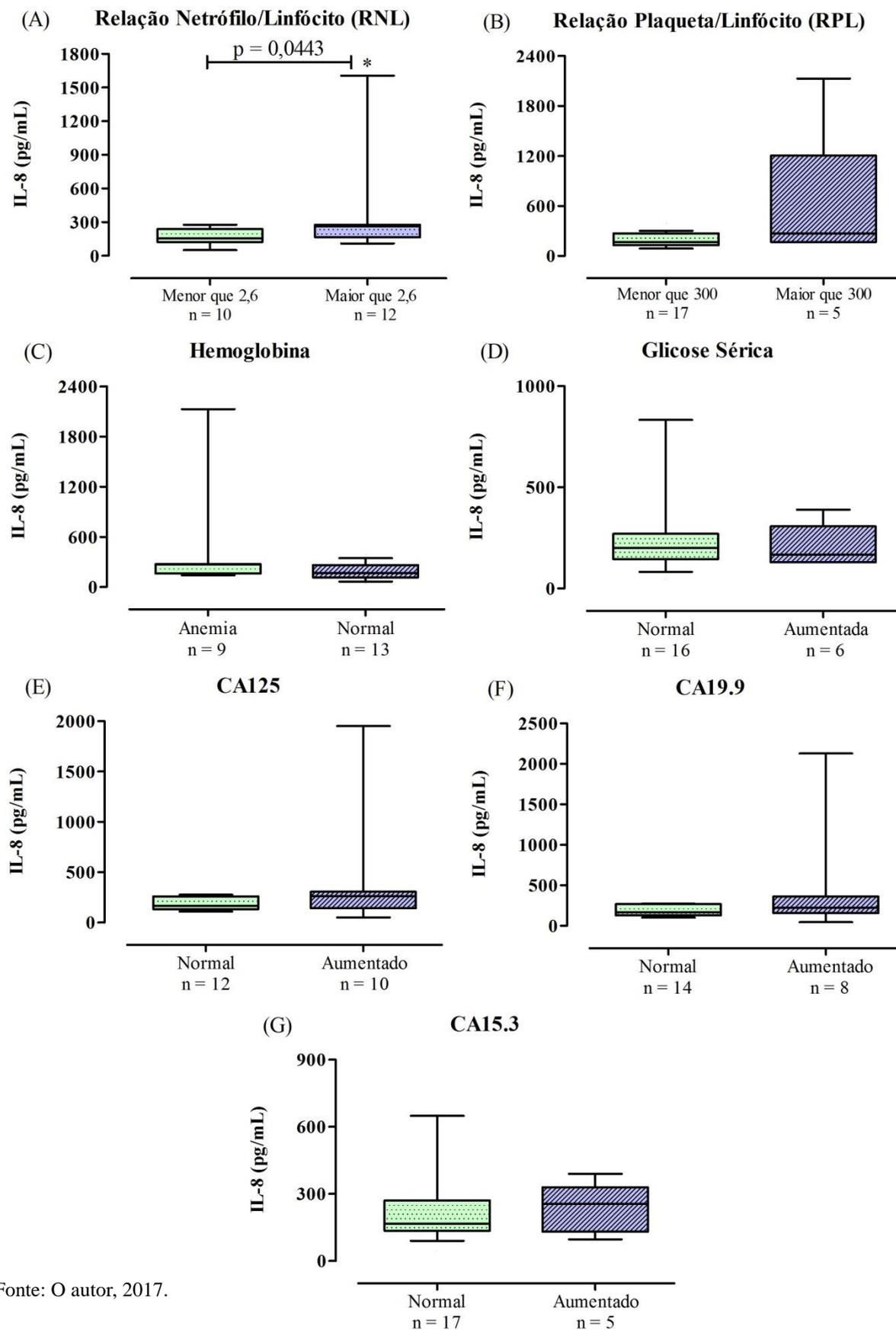
Fonte: O autor, 2017.

Figura 16 – Relação de IL-6 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney).



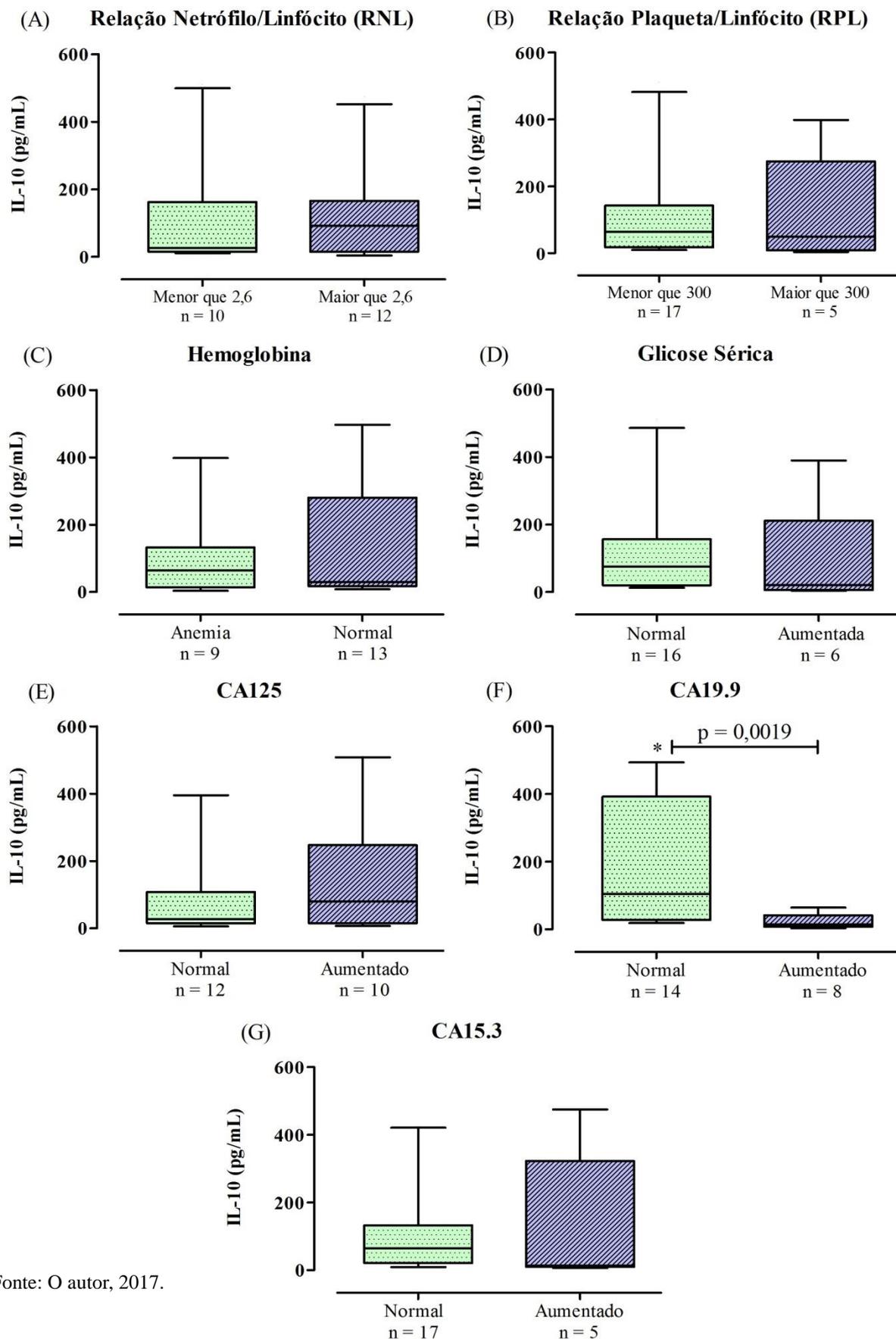
Fonte: O autor, 2017.

Figura 17 – Relação de IL-8 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney).



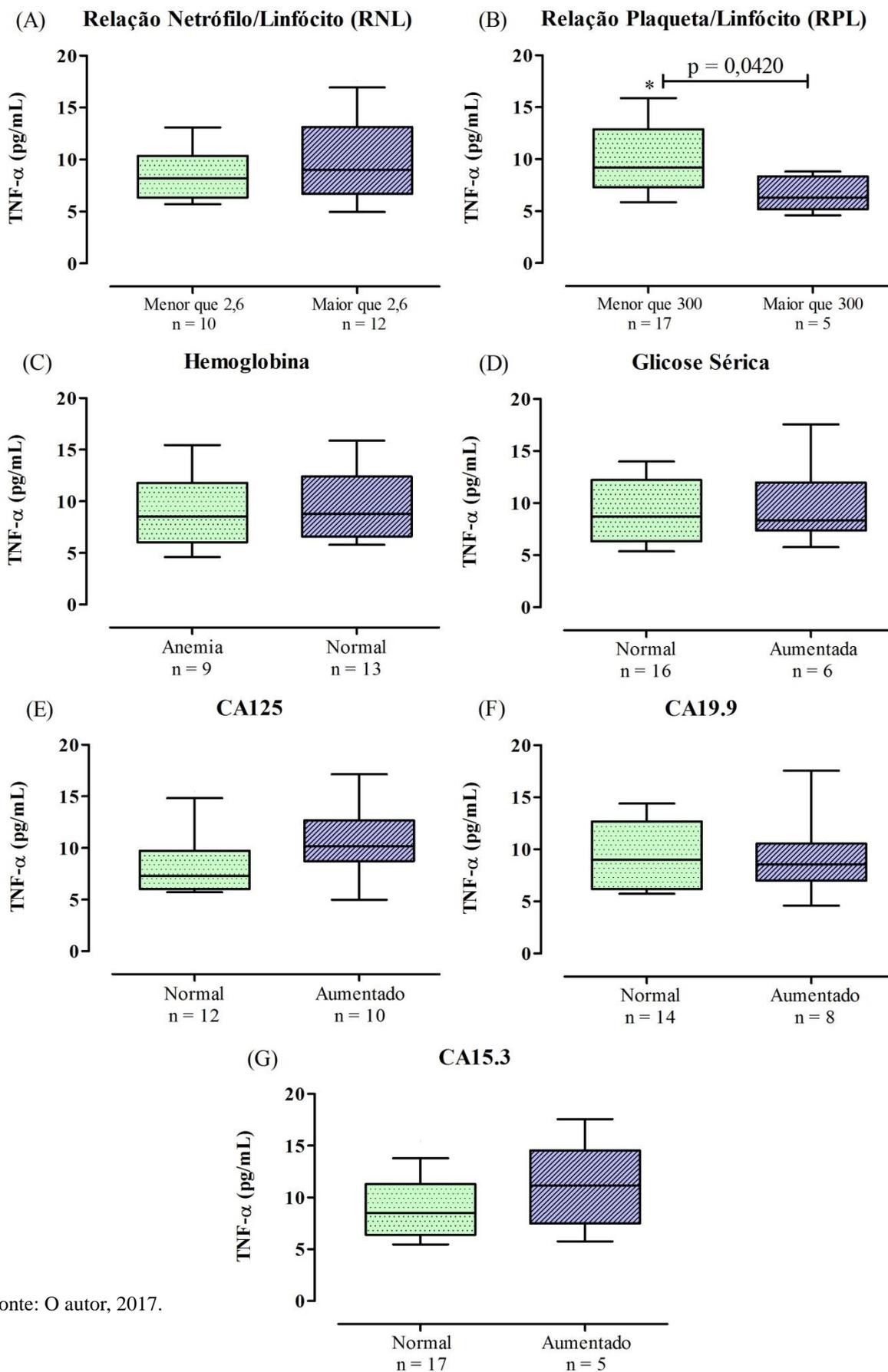
Fonte: O autor, 2017.

Figura 18 – Relação de IL-10 (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney).



Fonte: O autor, 2017.

Figura 19 – Relação de TNF- α (mediana, percentis 10%, 25%, 75% e 90%) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Teste Mann Whitney).



Fonte: O autor, 2017.

6 DISCUSSÃO

O câncer ovariano ainda representa um grande desafio para a ginecologia oncológica e por ainda não existir estratégias específicas de triagem e prevenção para a doença a maioria das pacientes são diagnosticadas em um estágio avançado (DALTOÉ et al., 2010). É uma doença heterogênea e as associações com os marcadores inflamatórios podem indicar o risco da doença e diferir entre os seus subtipos histológicos e o modelo de carcinogênese - tumores Tipo 1 e 2 (KURMAN & SHIH, 2011).

Evidências epidemiológicas indicam que a inflamação crônica é um dos mecanismos centrais na patogênese do câncer ovariano. O papel da inflamação na carcinogênese do câncer de ovário foi proposto pela primeira vez na "teoria da ovulação incessante", na qual, a ruptura do epitélio da superfície ovariana induz uma reação inflamatória com produção de citocinas, levando ao dano celular e a uma proliferação celular desordenada (FLEMING et al., 2006; OSE et al., 2015). A inflamação crônica pode induzir uma rápida divisão celular, aumentando a possibilidade de erro de replicação e um reparo ineficaz do DNA com subsequente aparecimento de mutações (KURMAN & SHIH, 2011).

O microambiente imunológico molecular e celular nos tecidos tumorais está altamente organizado. É composto de tipos heterogêneos de células e moléculas solúveis, dentre elas as citocinas, que por sua vez, podem exercer propriedades pró-tumorais ou antitumorais, dependem do contexto da resposta imunitária (FRIDMAN et al., 2011; DIAZ OREA et al., 2017).

Grande quantidade de leucócitos, principalmente macrófagos e linfócitos T podem ser encontrados no estroma tumoral (NEGUS et al., 1997) e em efusões neoplásicas (MANTOVANI, 1997), sendo capazes de produzir citocinas do tipo Th1 e Th2. Uma alteração no equilíbrio entre as células T auxiliares tipo 1 e tipo 2 (células Th1 e Th2), durante o progresso tumoral, pode alterar o perfil de produção de citocinas Th1 para Th2. Muitos estudos indicam que o desequilíbrio Th1-Th2 é considerado um fator importante no desenvolvimento do câncer permitindo que as células tumorais escapem à vigilância imunológica e reduzindo a resposta imune ao tumor (MANTOVANI et al., 1997; GREEN et al., 2010).

Existem diferenças na quantidade de citocinas expressas no microambiente tumoral entre tumores não neoplásicos, neoplasias benignas e malignas de ovário,

sugerindo um papel significativo das citocinas na progressão tumoral (TAVARES-MURTA et al., 2004). Níveis séricos de IL-6, IL-8 e IL-18 podem se correlacionar ao pior prognóstico no câncer de ovário e com a sobrevida global (SCAMBIA et al., 1995; AKAHIRO et al., 2004; KASSIM et al., 2004). O aumento sistêmico de IL-12 e IL-16 pode ser observado durante a progressão tumoral (KOVACS, 2001). A análise da expressão de citocinas através de RT-PCR em RNA isolado de carcinoma de ovário demonstrou presença de TGF e IL-10 e ausência de IFN- γ ; sendo que metade desses tumores expressou GM-CSF e IL-8 (MEROGI et al., 1996).

No câncer de mama, algumas citocinas estimulam (IL-1, IL-6, IL-11, TNF- α) enquanto outras inibem (IL-12, IL-18, IFNs) a proliferação e/ou invasão pelas células malignas. Os interferons, IL-2 e ocasionalmente IL-6 e IL-12 são utilizados no tratamento para câncer avançado, para aumentar a sensibilidade hormonal ou estimular a imunidade celular (NICOLINI et al., 2006). Em câncer de mama, foram demonstradas altas concentrações sérias de IL-6, IL-8 e IL-10 comparadas com mulheres sadias (KOZŁOWSKI et al., 2003). Além disso, os níveis séricos de IL-10 e a expressão tecidual dessa citocina foram mais altos em pacientes com neoplasia maligna de ovário em comparação com neoplasias benignas e controles normais (ZHOU et al., 2007).

Em nosso estudo, foram avaliadas as dosagens das citocinas IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α e metabólitos de óxido nítrico (NO_{2+} + NO_3) no líquido intracístico de mulheres com tumores não neoplásicos, neoplasias benignas e malignas primárias de ovário, verificando se houve diferença nas concentrações dessas citocinas e dos metabólitos do NO nos diferentes grupos de neoplasias.

Em nosso trabalho, a mediana de idade das pacientes do grupo de tumores não neoplásicos foi de 47 anos, do grupo de neoplasia benigna foi de 49 anos e do grupo de neoplasia maligna foi de 58 anos, dado este um pouco menor do que o relatado pela literatura (OMURA et al., 1991; SIEGEL et al., 2017). Isso pode ser explicado pela inclusão de tumores germinativos e dos cordões sexuais, que ocorrem com maior frequência em idades mais jovens (BJORRKHOLM & PETERSSON, 1980; SCHWEPPE & BELLER, 1982).

Estudos indicam que o câncer epitelial de ovário é o principal subtipo da doença e é responsável por mais de 50% de todos os tumores malignos ovarianos (GAVALAS et al., 2010). O nosso estudo está de acordo com esses dados, mostrando que os tumores do tipo seroso (27,3%) foi o que teve maior frequência entre as pacientes do grupo de

neoplasias malignas. Em relação ao estadiamento, 68,2% das pacientes foram diagnosticadas em estadiamento I, 4,5% das pacientes em estadiamento II e 37,3% em estadiamentos III ou IV. Conforme a literatura, grande parte das neoplasias malignas de ovário são diagnosticadas em estadiamentos III e IV, portanto, têm um prognóstico muito pobre (HENNESSY et al., 2009) e cerca de um terço dos casos de câncer de ovário são diagnosticados em estadiamentos I ou II (HACKER et al., 1983). Essa divergência poderia ser explicada pela inclusão de tumores não epiteliais, com melhor prognóstico, e pelos critérios utilizados para a indicação cirúrgica.

A interleucina 2 (IL-2) é uma citocina pleiotrópica que estimula a proliferação e ativação das células *Natural Killer*, é o principal fator estimulador das células T, induz a diferenciação das células T reguladoras e medeia a morte celular induzida pela ativação. A IL-2 não especifica o tipo de diferenciação Th que participa, pois modula a expressão de receptores e fatores de transcrição para outras citocinas, promovendo ou inibindo as citocinas que se correlacionam com cada estado da diferenciação de Th (LIAO et al., 2011). É produzida inicialmente em uma resposta imunitária Th1, considerada mediadora crítica do equilíbrio Th1/Th2 e está envolvida no processo de carcinogênese por induzir a inflamação nos órgãos humanos (DIAZ OREA et al., 2017).

A presença de altos níveis de receptores de IL-2 (IL-2R's) tem sido encontrada no soro de pacientes com vários tipos de tumores sólidos (LISSONI et al., 1990; BRUNETTI et al., 1999). Em neoplasia maligna de ovário, um aumento nas concentrações dos receptores de IL-2 pode ser encontrado em estadiamentos mais avançados da doença, podendo ter um papel na predição do risco de recorrência (GEBAUER et al., 1999). Níveis séricos dos receptores de IL-2 estiveram significativamente elevados em pacientes com câncer de ovário comparando-se com tumores ginecológicos benignos e pacientes sem a doença, e podem refletir o estado do sistema imune e a gravidade da doença, sendo um possível marcador de prognóstico (GADDUCCI et al., 1999; WANG et al., 1998).

Ao compararmos a dosagem de IL-2 no líquido intracístico de tumores não neoplásicos, neoplasias benignas e malignas primárias de ovário, em nosso estudo não houve diferença significativa em sua expressão entre os grupos. Quando relacionamos as dosagens de IL-2 com os parâmetros clínicos e patológicos das pacientes com neoplasia maligna primária de ovário, encontramos níveis aumentados em tumores com grau histológico 1 quando comparado ao grupo de tumores com graus histológicos 2 e 3

($p=0,0112$). Isso pode se justificar pela ação conjunta a outras citocinas no microambiente tumoral.

A interleucina 5 (IL-5) uma citocina secretada pelas células T CD4+ auxiliares. Tem a função de estimular as células B para aumentar a secreção de imunoglobulinas do tipo IgA e está diretamente ligada ao crescimento e a diferenciação dos eosinófilos (KAMINUMA et al., 2005; ABBAS et al., 2008).

Em nosso estudo, as concentrações de IL-5 não apresentaram diferenças significativas entre os grupos estudados, havendo apenas um leve aumento dos seus níveis nos grupos de neoplasias benignas e malignas. Um estudo na literatura mostrou a relação de altos níveis séricos de IL-5 com tumores de alto grau histológico e doença avançada (TSAI-TURTON et al., 2009) a sugerindo ser um fator de mau prognóstico, mas em nosso estudo ela não demonstrou tal relevância. Quando analisamos os fatores prognósticos laboratoriais, a IL-5 teve maior expressão nas pacientes com glicemia normal ($p = 0,0245$). Na literatura não foi encontrado dados consistentes sobre esse fator quando analisado de forma isolada.

A interleucina 6 (IL-6) é uma glicoproteína que tem sua produção mediada por outras citocinas como o TNF- α , e se comporta como um importante marcador inflamatório. Evidências sugerem que a IL-6 tem um papel significativo na fisiopatologia do câncer ovariano, sendo uma das principais citocinas imunorreguladoras presentes no microambiente tumoral, onde ela cria uma rede imunossupressora que protege o tumor do sistema imunológico, além de estar envolvida no crescimento e na progressão da doença (LO et al, 2011; KULBE et al.,2012; MATTE et al., 2012; MASOUMI-MOGHADDAM et al., 2015), atuando na estimulação do crescimento e sobrevivência de células malignas, promoção da invasão e de metástase, e modulação de subtipos de células T promotoras de tumores (GOPINATHAN et al., 2015). A IL-6 é capaz de estimular a produção de outras citocinas inflamatórias, a infiltração tumoral de macrófagos em tecido ovariano e a angiogênese tumoral. Há uma forte associação da IL-6 com a carcinogênese e a progressão do câncer ovariano (LO et al, 2011), bem como a sua participação na resistência à quimioterapia (WANG et al., 2010).

Em nosso estudo, houve maior expressão de IL-6 no grupo de neoplasias malignas de ovário quando comparado ao grupo de neoplasias benignas ($p=0,0005$), e foi mais expressa em pacientes com níveis de hemoglobina menor que 12 g/dL ($p=0,0232$). No trabalho de Qin e colaboradores (2017), a concentração de hemoglobina

(Hb) foi significativamente menor no câncer de ovário do que no grupo controle, indicando que a IL-6 é capaz de produzir fatores inflamatórios que podem afetar o metabolismo do ferro e inibir a produção da eritropoietina e, conseqüentemente, impedindo a maturação dos eritrócitos.

A interleucina 8 (IL-8) é uma quimiocina. Ela é um dos principais mediadores da resposta imune inata inicial aos microrganismos intracelulares e é a indutora-chave da imunidade mediada por células contra esses organismos. Várias células normais e células tumorais expressam a IL-8. Deste modo, a IL-8 é secretada tanto por células mesoteliais, células endoteliais e neutrófilos, quanto por células tumorais. Sua principal ação é servir como estímulo migratório para as células do sistema imune, principalmente neutrófilos, além de favorecer o aumento da expressão de moléculas de adesão por células endoteliais (ZWAHLEN et al., 1993). É uma citocina pro-angiogênica, encontrada em diversos tipos de neoplasias humanas (XIE, 2001) e sua secreção está relacionada à proliferação, potencial angiogênico, adesão e invasão tumoral no câncer de ovário (WANG et al., 2012). O aumento dos níveis de IL-8/CXCL-8 tem sido descrita como um potencial biomarcador do câncer ovariano (LOKSHIN et al., 2006) e o aumento da sua produção pode ser detectado tanto no soro, como na ascite e no tecido tumoral (WANG et al., 2012) e desempenha um importante papel no desenvolvimento de células cancerígenas do ovário (XU & FIDDLER, 2001). Além disso, vários estudos têm demonstrado que a IL-8 está diretamente relacionada com o pior prognóstico da doença (MAYERHOFER et al., 2001; KASSIM et al., 2004).

Sadłacki e colaboradores (2011) compararam as concentrações do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e da IL-8, moléculas potencialmente estimulantes da angiogênese, no soro e na ascite de pacientes com câncer ovariano e detectaram que as concentrações desses mediadores foram significativamente mais elevadas na ascite quando comparadas com as concentrações presente no soro. O câncer de ovário se dissemina tipicamente para o abdome, o que dificulta o seu tratamento, e também torna o líquido ascítico um compartimento ideal para se avaliar a resposta imune ao tumor, assim como o microambiente tumoral (MICHELI et al., 2015).

O aumento dos níveis circulantes de IL-8 já pode ser encontrado em pacientes com câncer de ovário em estágio I, mostrando que a IL-8 pode ser encontrada em níveis aumentados em pacientes com neoplasia benigna. (KRISTJÁNSDÓTTIR et al., 2014). Em pacientes com câncer epitelial de ovário, os níveis séricos dessas citocinas, foram

significativamente superiores, quando comparadas a um grupo controle, sendo associada à redução da sobrevida global e da sobrevida livre da doença (DOBRZYCKA et al., 2013). Estudo envolvendo análise multivariada, com acompanhamento de pacientes por um período de cinco anos, mostrou que os níveis elevados de IL-6 e IL-8 desempenham um forte impacto no prognóstico da doença (AUNE et al., 2012; DOBRZYCKA et al., 2013).

Ao quantificarmos as dosagens de CXCL-8 no líquido intracístico de tumores não neoplásicos, neoplasias benignas e malignas primárias de ovário, houve diferença estatística quando comparamos a grupo de neoplasias malignas com o grupo de neoplasia benignas ($p = 0,0110$). Ao avaliarmos o perfil da citocina, dentre os parâmetros dos fatores prognósticos, ela teve maior expressão no grupo de pacientes com sobrevida livre da doença menor que 36 meses ($p = 0,0288$) e no grupo de pacientes com RNL maior que 2,6. Ambos são fatores considerados de pior prognóstico.

Embora o papel da IL-10 no câncer tenha sido estudado extensivamente, a sua exata relação com o tumor ainda continua obscura, pois o papel desta citocina na resposta imune contra o câncer é controverso. A IL-10 é comumente considerada como uma citocina que permite que as células malignas escapem da vigilância imunológica (MOCELLIN et al, 2005; YIGIT et al., 2011), inclusive no câncer epitelial de ovário (LIU et al., 2012). A importância da produção de IL-10 no microambiente tumoral é discutida, visto que ela pode ser mantida por células malignas, macrófagos infiltrantes de tumores e linfócitos, incluindo células Natural Killer. A IL-10 pode favorecer o crescimento tumoral in vitro por estimulação da proliferação celular e inibição da apoptose celular. Altos níveis sistêmicos de IL-10 correlacionam-se com a baixa sobrevivência de alguns pacientes com câncer (MOCELLIN et al, 2005).

Ao avaliarmos a dosagem de IL-10 no líquido intracístico de tumores não neoplásicos, neoplasias benignas e malignas primárias de ovário, em nosso estudo não houve diferença significativa nas suas dosagens entre os grupos. Níveis aumentados de IL-10 foram encontrados em pacientes com dosagens normais de CA19.9 ($p=0,0019$).

O TNF- α está alterado em tumores malignos de ovário. Vários estudos têm associado à inflamação com a tumorigênese ovariana, indicando que o TNF- α desempenha um papel importante na modulação da invasão, angiogênese e metástase tumoral (DOBRZYCKA et al, 2009; CHARLES et al, 2009). Em um estudo sobre as concentrações de TNF- α no soro e lavado peritoneal de 135 mulheres com neoplasias ovarianas, mostrou que as concentrações de TNF- α no soro e no lavado peritoneal das

pacientes com câncer de ovário foram significativamente mais elevadas do que das pacientes com neoplasia benigna (SIPAK-SZMIGIEL et al., 2017). Rasool et al. (2016) demonstraram que os macrófagos associados a tumores (TAM) produzem citocinas como TNF- α , que é um dos principais reguladores da inflamação associado ao câncer, exercendo atividades pró-tumorais e supressão adaptativa da reação imunológica. O TNF- α está implicado na manutenção e homeostase do sistema imunológico, inflamação e defesa do hospedeiro.

A atividade biológica do TNF- α pode ser modulada pelos seus receptores de superfície de membrana, os TNF-R. Estas proteínas são expressas na superfície da membrana e tem grande capacidade de se ligarem ao TNF (BALKWILL, 2006; BERTAZZA et al., 2008). A regulação dos TNF-Rs é um fator crítico para se verificar a capacidade de resposta das células tumorais ao TNF- α . Os TNF-R apresentam também uma forma solúvel, os sTNF-R, e estas formas são antagonistas de citocinas específicas. Eles se ligam no TNF- α circulante e inibem a sua atividade biológica, impedindo a sua ligação aos receptores celulares. Altas concentrações de sTNF-Rs podem inibir a atividade do TNF e podem, assim, representar um mecanismo de escape do tumor contra os efeitos destrutivos de TNF- α . Embora o papel patogênico real dos sTNF-Rs permaneça controverso, eles têm sido propostos como marcadores fidedignos de local de produção de TNF- α (ANDERSON et al., 2004; SZLOSAREK et al., 2006).

Nosso estudo não mostrou diferença significativa dos níveis de TNF- α entre os grupos estudados. Apesar disso, quando relacionamos as dosagens de TNF- α com os parâmetros patológicos e laboratoriais das pacientes com neoplasia maligna primária de ovário, o aumento dos seus níveis foram encontrados em tumores com modelo de carcinogênese Tipo 2 ($p=0,0364$), e em pacientes com RPL menor que 300 ($p=0,0420$). Tumores ovarianos do Tipo 2 são mais agressivos e geneticamente instáveis (KURMAN & SHIH, 2011). O TNF pode adquirir um efeito pro ou antitumoral quando ativado via TNF-R1 ou TNF-R2, respectivamente (DOBRZYCKA et al, 2009).

O óxido nítrico (NO) é uma molécula gasosa multifuncional que desempenha um papel diversificado na biologia do câncer através de múltiplos mecanismos, podendo ser gerado por células tumorais, estromais e endoteliais. A concentração de NO pode promover ou inibir a transformação neoplásica, a progressão do tumor e a metástase (FUKUMURA & KASHIWAGI, 2006; BURKE et al., 2013; CHENG et al., 2014). O NO em níveis baixos (<100 nM) promove a progressão tumoral induzindo a proliferação, a migração e a invasão de células tumorais, bem como a sua angiogênese,

via estimulação da secreção do fator de crescimento endotelial vascular. Já os níveis elevados de NO (> 400 nM) induzem um efeito citostáticos/citotóxicos resultando em morte de células tumorais, regressão tumoral e inibição de metástase (MOCELLIN et al., 2005; NAKAMURA et al., 2006; RIDNOUR et al., 2008; THOMAS et al., 2008; BURKE et al., 2013). Os efeitos aparentemente opostos do NO têm sido atribuídos a muitos fatores como diferenças na isoforma das enzimas NOS, níveis de expressão, linhagens celulares ou tecidos tumorais heterogêneos (XIE & FIDLER, 1998).

A literatura mostra que a maioria das neoplasias ovarianas malignas apresenta um aumento na produção de NO, quando comparadas com pacientes sadias (THOMSEN et al., 1994; NOMELINI et al., 2008). Nossos resultados demonstraram um aumento na produção intracística de NO em neoplasias malignas quando comparadas com neoplasias benignas ($p = 0,0217$), sem diferença em relação ao grupo de tumores não neoplásicos. Ações inibitórias ou estimuladoras do desenvolvimento de tumores podem ocorrer na dependência dos níveis de expressão da NOSi e consequente produção de NO no microambiente tumoral. A maioria dos estudos sobre a expressão dos componentes de NO no câncer ovariano é focada na NOSi, que a considera como um importante fator de progressão tumoral (SWITZER et al., 2012). Raspollini et al. (2004) e Engels et al. (2009) associaram a baixa expressão de NOSi em tecidos de tumores ovarianos malignos com o melhor prognóstico da doença, ligando tanto a uma maior sobrevida livre da doença quanto a resposta favorável a quimioterapia. Por outro lado, Antilla et al. (2007) relataram que a expressão elevada de NOSi no câncer de ovário primário prediz uma melhor sobrevida livre relacionada à doença e sem recorrência.

Dados conflitantes na literatura sobre a relação entre a expressão de NOSi e os resultados clínicos de pacientes com câncer ovarianos são encontrados, mas a grande maioria relaciona o aumento da expressão da NOSi com as neoplasias malignas ou câncer mais invasivos (El-SEHEMY et al., 2016). Devemos salientar que nem sempre o alto nível de expressão da NOSi pode ser ligado a um aumento das concentrações de NO no microambiente tumoral, visto que, o oxigênio é o substrato necessário para a síntese de NO pela NOS (LIU et al. 1996) e a baixa disponibilidade desse elemento nos microambientes tumorais pode limitar a produção do NO, mesmo que o tecido esteja expressando um alto nível de NOSi. Em tumores sólidos devemos avaliar com cautela a expressão da NOSi frente a produção de NO, visto que, nesses tipos de tumores a vascularização e o fornecimento de oxigênio é mais ineficaz (El-SEHEMY et al., 2016).

Em nosso trabalho, ao compararmos a quantificação dos metabólitos de NO aos fatores prognósticos clínicos e patológicos das pacientes com neoplasia maligna ovariana, não encontramos nenhuma significância estatística. Já ao compararmos a quantificação dos metabólitos de NO com os fatores prognósticos laboratoriais encontramos significância estatística com a relação à RNL menor que 2,6 ($p = 0,0443$) e com a maior dosagem do marcador tumoral CA19.9 ($p = 0,00112$). Os níveis aumentados de NO relacionados à RNL menor que 2,6 podem ser associados a um fator protetor do NO em relação a doença, visto que a RNL menor que 2,6 é indicativo de um melhor prognóstico. O CA19.9 é frequentemente encontrado mais elevado em tumores malignos do tipo mucinoso e em carcinomas endometrióides (NEGISHI et al. 1985) e desta forma o nível aumentado de NO encontrado no nosso estudo pode ser associado a inclusão de um maior número de pacientes com tumores do tipo mucinoso no estudo.

Reconhecemos que nosso estudo contou com um n pequeno de neoplasias malignas de ovário, que também se tratou de uma amostra heterogênea, na qual agrupamos os tumores *borderline* às neoplasias malignas. Provavelmente, com o aumento desse grupo de pacientes, outras citocinas poderiam apresentar significância estatística na comparação com neoplasias benignas de ovário e tumores não neoplásicos.

Os linfócitos tumor infiltrantes perante a resposta imunitária específica do tumor representam um potencial marcador da intensidade da resposta imunitária ao câncer de ovário (SINGH et al., 2016). Em particular, é importante entender que muitos sítios tumorais em um mesmo paciente têm diferentes microambientes imunológicos. O aumento da heterogeneidade nesses locais podem refletir diferenças importantes na biologia estromal e na resposta inflamatória intrínseca (HAGEMANN et al, 2011).

O aumento dos valores intracísticos de algumas citocinas podem estar associados com o pior prognóstico no câncer ovariano, especialmente IL-6 e IL-8. Novos estudos com maior amostra de pacientes são necessários para confirmar o papel das citocinas como um fator de diagnóstico e prognóstico no câncer ovariano.

7 CONCLUSÃO

Houve aumento dos níveis de IL-6, IL-8 e dos metabólitos do NO no grupo de neoplasias malignas de ovário quando comparadas com o grupo de neoplasias benignas.

Quando os fatores prognósticos clínicos e patológicos foram avaliados, nosso estudo mostrou que a dosagem de IL-2 de pacientes com neoplasia maligna primária de ovário foi maior em tumores com grau histológico 1 quando comparado ao grupo de tumores com graus histológicos 2 e 3; a dosagem de TNF- α foi maior em tumores com modelo de carcinogênese Tipo 2 e as dosagens de IL-8 foram maiores no grupo de pacientes com sobrevida livre da doença menor que 36 meses.

Já ao compararmos as dosagens das citocinas com os fatores prognósticos laboratoriais, nosso estudo mostrou que os níveis de TNF- α foram maiores em pacientes com RPL menor que 300; os níveis de IL-6 foram maiores em pacientes com dosagens de hemoglobina menor que 12 g/dL; os níveis de IL-8 foram maiores no grupo de pacientes com RNL maior que 2,6; os níveis de NO foram maiores em pacientes com relação à RNL menor que 2,6 e com a maior dosagem do marcador tumoral CA19.9 e IL-5 teve maior expressão nas pacientes com glicemia normal.

O aumento dos valores intracísticos de algumas citocinas podem estar associados com o pior prognóstico no câncer ovariano, especialmente IL-6 e IL-8.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. In: ABBAS, A. K. **Imunologia celular e molecular**. [Tradução de Claudia Reali e outros] 6ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.
- AGGARWAL, B.B.; SHISHODIA, S.; SANDUR, S.K. et al. Inflammation and cancer: how hot is the link? **Biochem. Pharmacol.**, Oxford, v. 72, n. 11, p. 1605-1621, 2016.
- AGARWAL, R.; KAYE, S. B. Prognostic factors in ovarian cancer: how close are we to a complete picture? **Ann. Oncol.**, Dordrecht, v. 16, n. 1, p. 4-6, 2005.
- AKAHIRO, J.; KONNO, R.; ITO, K. et al. Impact of serum interleukin-18 level as a prognostic indicator in patients with epithelial ovarian carcinoma. **Int. J. Clin. Oncol.**, Tokyo, v. 9, n. 1, p. 42-46, 2004.
- AKAIKE, T.; MAEDA, H. Nitric oxide and virus infection. **Immunology**, Oxford, v. 101, n. 3, p. 300-308, 2000.
- ALDERTON, W.K.; COOPER, C.E.; KNOWLES, R.G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. **Biochem. J.**, London, v. 357, n. 3, p. 593-615, 2001.
- ALI-FEHMI, R.; SEMAAN, A.; SETHI, S. et al. Molecular typing of epithelial ovarian carcinomas using inflammatory markers. **Cancer**, Philadelphia, v. 117, n. 2, p. 301-309. 2011
- AMBS, S.; BENNETT, W.P.; MERRIAM, W.G. et al. Vascular endothelial growth factor and nitric oxide synthase expression in human lung cancer and the relation to p53. **Br. J. Cancer.**, London, v. 78, n. 2, p. 233-239, 1998.
- ANDERSON, G.M.; NAKADA, M.T.; DeWITTE, M. Tumor necrosis factor alpha in the pathogenesis and treatment of cancer. **Curr. Opin. Pharmacol.**, Oxford, v. 4, p. 3014-320, 2004.
- ASHER, V.; LEE, J.; INNAMAA, A. et al. Preoperative platelet lymphocyte ratio as an independent prognostic marker in ovarian cancer. **Clin. Transl. Oncol.**, Barcelona, v. 13, n. 7, p. 499-503, 2011.
- ATHANASSIADOU, P.; GRAPSA, D.; ATHANASSIADES, P. et al. The prognostic significance of COX-2 and survivin expression in ovarian cancer. **Pathol. Immunopathol. Res.**, Basel, v. 204, n. 4, p. 241-249, 2008.
- AUNE, G.; STUNES, A.K.; LIAN, A.M. et al. Circulating interleukin-8 and plasminogen activator inhibitor-1 are increased in women with ovarian carcinoma. **Results Immunol.**, Oxford, v. 2, p. 190-195, 2012.
- BAGGIOLINI, M.; DEWALD, B.; MOSER, B. Interleukin 8 and related chemotactic cytokines – CXC and CC chemokines. **Adv Immunol.**, New York, v. 55, p. 97-179. 1994.

- BALKWILL, F.; MANTOVANI, A. Inflammation and cancer: back to Virchow? **Lancet**, London, n. 9255, p. 539-545, 2001.
- BALKWILL, F. TNF-alpha in promotion and progression of cancer. **Cancer Metastasis Rev.**, Boston, v. 25, n. 3, p. 409-416, 2006.
- BAMIAS, A.; TSIATAS, M. L.; KAFANTARI, E. Significant differences of lymphocytes isolated from ascites of patients with ovarian cancer compared to blood and tumor lymphocytes. Association of CD3+CD56+ cells with platinum resistance. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 106, p. 75-81, 2007
- BECHT, E. L. M. K.; BONAVIDA, B. Inhibitory effects of 17 β -estradiol and progesterone on ovarian carcinoma cell proliferation: a potential role for inducible nitric oxide synthase. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 82, n. 1, p. 127-138, 2001.
- BECKER, H.M.G.; GUIMARÃES, R.E.S.; NASCIMENTO, E. et al. Perfil de citocinas e tipificação de hla em pacientes com polipose nasossinusal tolerantes e intolerantes a aspirina. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, São Paulo, v. 69, n. 3, 2003.
- BELISLE, J.A.; GUBBELS, J.A.; RAPHAEL, C.A. et al. Peritoneal natural killer cells from epithelial ovarian cancer patients show an altered phenotype and bind to the tumour marker MUC16 (CA125). **Immunology**, v. 122, n. 3, p. 418-429, 2007.
- BELLATI, F.; VISCONTI, V.; NAPOLETANO, C. et al. Immunology of gynecologic neoplasms: analysis of the prognostic significance of the immune status. **Curr. Cancer Drug Targets**, Amarillo, v. 9, p. 541-565, 2009.
- BELLONE, S.; WATTS, K.; CANE', S. et al. High serum levels of interleukin-6 in endometrial carcinoma are associated with uterine serous papillary histology, a highly aggressive and chemotherapy-resistant variant of endometrial cancer. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 98, n. 1, p. 92-98, 2005.
- BENJAMIM, C.F.; FERREIRA, S.H.; CUNHA, F.Q. Role of Nitric Oxide in the Failure of Neutrophil Migration in Sepsis. **Jurnal Infect. Dis.**, Oxford, v. 182, p. 214-223, 2000.
- BENJAMIN, D.; KNOBLOCK, T.J.; DAYTON, M.A. Human B cell interleukin-10 cell lines derived from patients with acquired immunodeficiency syndrome and Burkitt's lymphoma constitutively secrete large quantities of interleukine-10. **Blood**, v. 80, n. 5, p. 1289-1298, 1992.
- BERTAZZA, L.; MOCELLIN, S. Tumor necrosis factor (TNF) biology and cell death. **Front. biosci.**, Tampa, v. 13, p. 2736-2743, 2008.
- BISHARA, S.; GRIFFIN, M.; CARGILL, A. et al. Pre-treatment white blood cell subtypes as prognostic indicators in ovarian cancer. **Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.**, Amsterdam, v. 138, p. 71-75, 2008.
- BHOOLA, S.; HOSKINS, W. J. Diagnosis and management of epithelial ovarian cancer. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 107, p. 1.399-1.410, 2006.

BOGLIOLO, L., 1908-1981. **Bogliolo, Patologia** / [editor] Geraldo Brasileiro Filho. 8ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

BOULTON, S.J. Cellular functions of the BRCA tumour-suppressor proteins. **Biochem. Soc. Trans.**, London, v. 34, n. 5, p. 633-645, 2006.

BRAGA, A. C. S. Pacientes oncológicos:a influência do câncer no estado emocional e a concepção de finitude. Monografia não publicada. **Curso de Graduação em Psicologia**, Centro Universitário de João Pessoa. João Pessoa, PB, 2005.

BREWER, M. A. et. al. Prevection of varian cancer: intraepithelial neoplasia. **Clin. Cancer Res.**, Philadelphia, v. 9, p. 20-30, 2003.

BRUNETTI, G.; BOSSI, A.; BAIARDI, P. et al. Soluble interleukin 2 receptor (sIL-2R) in monitoring advanced lung cancer during chemotherapy. **Lung Cancer**, Limerick, v. 23, n. 1 p. 1-9, 1999.

BULUT, A.S.; ERDEN, E.; SAK, S.D. et al. Significance of inducible nitric oxide synthase expression in benign and malignant breast epithelium: an immunohistochemical study of 151 cases. **Virchows Arch.**, Berlin, v. 447, n. 1, p. 24-30, 2005.

BURKE, A.J.; SULLIVAN, F.J.; GILES, F.J. et al. The yin and yang of nitric oxide in cancer progression, **Carcinogenesis**, Oxford, v. 34, p. 503-512, 2013.

BUTTERY, L.D.; SPRINGALL, D.R.; ANDRADE, S.P. et al. Induction of nitric oxide synthase in the neo-vasculature of experimental tumours in mice. **J. Pathol.**, Edinburgh, v. 171, n. 4, p. 311-9, 1993.

CANNISTRA, S. A. Cancer of the ovary. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 351, n. 24, p. 2519-2529, 2004.

CASAGRANDE, J. T.; LOUIE, E.W.; PIKE, M.C. et al. Incessant ovulation and ovarian cancer. **Lancet**, London, v. 2, n. 8135, p. 170-173, 1979.

CHARLES, K.A.; KULBE, H.; SOPER, R. et al. The tumor-promoting actions of TNF- α involve TNFR1 and IL-17 in ovarian cancer in mice and humans. **J. Clin. Invest.**, New York, v. 119, n. 10, p. 3011-3023, 2009.

CHENG, H.; WANG, L.; MOLLICA, M. et al. Nitric oxide in câncer metastasis, **Cancer Lett.** Virginia, v. 353, p. 1-7, 2014.

CHERCHI, P. L.; CAPOBIANCO, G.; AMBROSINI, G. et al. Intracystic evaluation of tumor markers in benign and malignant ovarian pathology. **Eur. J. Gynaecol. Oncol.**, Montreal, v. 23, p. 163-165, 2002.

CHO, H.; HUR, H.W.; KIM, S.W. et al. Pre-treatment neutrophil to lymphocyte ratio is elevated in epithelial ovarian cancer and predicts survival after treatment. **Cancer Immunol. Immunother.**, New York, v. 58, p. 15-23, 2009.

- CHOBANIAN, N.; DIETRICH, C. Ovarian Cancer. **Surg. Oncol. Clin. N. Am.**, Philadelphia, v. 88, p. 285-299, 2008.
- CIANFRANI, T. A short history of obstetrics and gynecology. Springfield: CC Thomas, 1960.
- COBBS, C.S.; BRENNAN, J.E.; ALDAPE, K.D. et al. Expression of nitric oxide synthase in human central nervous system tumors. **Cancer Res.**, Baltimore, v. 55, n. 4, p. 727-30, 1995.
- CORMIO, G.; ROSSI, C.; CAZZOLLA, A. et al. Distant metastasis in ovarian carcinoma. **Int. J. Gynecol. Cancer**, Cambridge, v. 13, n. 2, p. 125-129, 2003.
- CLUTTERBUCK, E.; SHIELDS, J.G.; GORDON, J. et al. Recombinant human interleukin 5 is an eosinophil differentiation factor but has no activity in standard human B cell growth factor assays. **Eur. J. Immunol.**, Weinheim, v. 17, n. 12, p. 1743-1750, 1987.
- CURIEL, T.J.; COUKOS, G.; ZOU, L. et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. **Nat. Med.**, New York, v. 10, n. 9, p. 942-949, 2004.
- DACHS, G.U.; TOZER, G.M. Hypoxia modulated gene expression: Angiogenesis, metastasis and therapeutic exploitation. **Eur. J. Cancer**, Oxford, v. 36, n. 13, p. 1649-1660, 2000.
- DALTOÉ, R.D.; SILVA, I.V.; PAULA, A.D. et al. O papel paradoxal do sistema imune no câncer de ovário. **ACM: arquivos catarinenses de medicina**, Florianópolis, v. 39, n. 2, p. 87-92, 2010.
- DEUTSCH, M.; BECK, D.; MANOR, D. et al. Metastatic brain tumor following negative second-look operation for ovarian carcinoma. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 27, n. 1, p. 116-20, 1987.
- DIAZ OREA, M.A.; MUÑOZ PEREZ, V.; GÓMEZ CONDE, E. et al. Expression of Cytokines Interleukin-2, Interleukin-4, Interleukin-10 and Transforming Growth Factor β in Gastric Adenocarcinoma Biopsies Obtained from Mexican Patients. **Asian Pac. J. Cancer Prev.**, Bangkok, v. 18, n. 2 p. 577-582, 2017.
- DOBRYZCKA, B.; MACKOWIAK-MATEJCZYK, B.; TERLIKOWSKA, K.M. et al. Serum levels of IL-6, IL-8 and CRP as prognostic factors in epithelial ovarian cancer. **Eur. Cytokine Netw.**, Montrouge, v. 24, p. 106-113, 2013.
- DOBRYZCKA, B.; TERLIKOWSKI, S.J.; KOWALCZUK, O. et al. Circulating levels of TNF- α and its soluble receptors in the plasma of patients with epithelial ovarian cancer. **Eur. Cytokine Netw.**, 2009, v. 20, n. 3, p. 131-134, 2009.
- DØRUM, A.; KRISTENSEN, G.B.; ABELER, V.M. et al. Early detection of familial ovarian cancer. **Eur. J. Cancer**, Oxford, v. 32, p. 1645-1651, 1996.

- DOTLIĆ, J.; TERZIĆ, M.; LIKIĆ, I. et al. Evaluation of adnexal masses: correlation between 39 clinical, ultrasound and histopathological findings. **Vojnosanit Pregl.**, Belgrade, v. 68, n. 10, p. 861-866, 2011.
- EARLE, C.C.; SCHRAG, D.; NEVILLE, B.A. et al. Effect of surgeon specialty on processes of care and outcomes for ovarian cancer patients. **J. Natl. Cancer Inst.**, Cary, v. 98, n. 3, p. 172-180, 2006.
- EL-SEHEMY, A.; POSTOVIT, L.M.; FU, Y.X. Nitric oxide signaling in human ovarian cancer: a potencial therapeutic target. **Nitric Oxide**, Orlando, v. 54, p. 30-37. 2016.
- ELLYARD, J.I.; SIMSON, L.; PARISH, C.R. Th2-mediated anti-tumour immunity: friend or foe? **Tissue Antigens**, Copenhagen, v. 70, p 1-11, 2007.
- ENGELS, K.; DU BOIS, A.; HARTER, P. et al. VEGF-A and i-NOS expression are prognostic factors in serous epithelial ovarian carcinomas after complete surgical resection. **J. Clin. Pathol.**, London, v. 62, p. 448-454, 2009.
- FAIRFIELD, K.M.; HANKINSON, S.E.; ROSNER, B.A. et al. Risk of ovarian carcinoma 16 and consumption of vitamins A, C and E and specific carotenoids: a prospective analysis. **Cancer**. v.92, n.9, p.2318-2326, 2001.
- FATHALLA, M. F. Incessant ovulation: a factor in ovarian neoplasia? **Lancet**, v. 2, m. 7716, p. 163, 1971.
- FELDMAN, G. B.; KNAPP, R. C. Lymphatic drainage of the peritoneal cavity and its significance in ovarian cancer. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 119, n. 7, p. 991-994, Aug. 1974.
- FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; ERVIK, M. et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11 [Internet]. Lyon, France: **International Agency for Research on Cancer**; 2013. Disponível em <<http://globocan.iarc.fr>> Acesso em: 04/05/2017.
- FISHMAN, D.A.; COHEN, L.; BLANK, S.V. et al. The role of ultrasound evaluation in the detection of early-stage epithelial ovarian cancer. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 192, p. 1214-1222, 2005.
- FLEMING, J.S.; BEAUGIÉ, C.R.; HAVIV, I. at al. Incessant ovulation, inflammation and epithelial ovarian carcinogenesis: revisiting old hypotheses. **Mol. Cell Endocrinol.**, Limerick, v. 247, n. 1-2, p. 4-21, 2006.
- FLORES, M.D.; ORTEGA-CAMARILLO, C.; ROSALES-TORRES, A.M. et al. El oxido nítrico como principal efector del sistema de la interleucina-1 em la ovulacion. **Gac. Mex.**, Ciudad del Mexico, v. 137, n. 4, 2001.
- FREEDMAN, R.S.; DEEVERS, M.; LIU, J. et al. Peritoneal inflammation - a microenvironment for Epithelial Ovarian Cancer (EOC). **J. Transl. Med.**, London, v. 2, p. 23, 2004.

FRIDMAN, W.H.; GALON, J.; DIEU-NOSJEAN, M.C. et al. Immune infiltration in human cancer: prognostic significance and disease control. **Curr. Top Microbiol. Immunol.**, Berlin, v. 344, p. 1-24, 2011.

FUKUMURA, D.; KASHIWAGI, S.; JAIN, R.K. The role of nitric oxide in tumour progression. **Nat. Rev. Cancer**, London, p. 521-534, 2006.

GADDUCCI, A.; COSIO, S.; TANA, R. et al. Serum and tissue biomarkers as predictive and prognostic variables in epithelial ovarian cancer. **Crit. Rev. Oncol. Hematol.**, Boca Raton, v. 69, p. 12-27, 2009.

GADDUCCI, A.; FERDEGHINI, M.; MALAGNINO, G. et al. Elevated serum levels of neopterin and soluble interleukin-2 receptor in patients with ovarian cancer. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 52, n. 3, p. 386-391, 1994.

GALON, J.; COSTES, A.; SANCHEZ-CABO, F. et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. **Science**, Washington, v. 313, n. 5795, p. 1960-1964, 2006.

GAVALAS, N.G.; KARADIMOU, A.; DIMOPOULOS, M.A. et al. Immune Response in Ovarian Cancer: How Is the Immune System Involved in Prognosis and Therapy: Potential for Treatment Utilization. **Clin. dev. immunol.**, Abingdon, ID 791603, 15 pages, 2010.

GEBAUER, G.; RIEGER, M.; JÄGER, W. et al. Prognostic relevance of soluble interleukin-2 receptors in patients with ovarian tumors. **Anticancer Res.**, Athens, v. 19, n. 4A, p. 2509-2511, 1999.

GEOMINI, P.; KRUITWAGEN, R.; BREMER, G.L. et al. The accuracy of risk scores in predicting ovarian malignancy: a systematic review. **Obstet. Gynecol.**, Hagerstown, v. 113, p. 384-394, 2009.

GOFF, B.A.; MANDEL, L.; MUNTZ, H.G. et al. Ovarian carcinoma diagnosis. **Cancer**, Philadelphia, v. 89, n. 10, p. 2068-2075, 2000.

GOPINATHAN, G.; MILAGRE, C.; PEARCE, O.M.T. et al. Interleukin-6 stimulates defective angiogenesis. **Cancer research.**, Baltimore, v. 75, n. 15, p. 3098-3107, 2015.

GUERRIERO, S.; AJOSSA, S.; GARAU, N. et al. Ultrasonography and Color Doppler-based triage for adnexal masses to provide the most appropriate surgical approach. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 192, p. 401-406, 2005.

GREEN, L.C.; RUIZ DE LUZURIAGA, K.; WAGNER, D.A. et al. Nitrate biosynthesis in man. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v. 78, n. 12, p. 7764-7768, 1981.

GRIMM, E.A.; WILSON, D.J.; ROSENBERG, S.A. Lymphokine-activated killer cell phenomenon. II The precursor phenotype is serologically distinct from peripheral T lymphocytes, memory CTL, and NK cells. **Exp. Med.**, Córdoba, v. 157, p. 884, 1983.

- HAGEMANN, T.; WILSON, J.; BURKE, F. et al. Ovarian cancer cells polarize macrophages toward a tumor-associated phenotype. **J. Immunol.**, Baltimore, v. 176, n. 8, p. 5023-5032, 2006.
- HACKER, N.F.; BEREK, J.S.; LAGASSE, L.D. et al. Primary cytoreductive surgery for epithelial ovarian cancer. **Obstet. Gynecol.**, Hagerstown, v. 61, n. 4, p. 413-420, 1983.
- HAGEMANN, A.R.; HAGEMANN, I.S.; CADUNGOG, M. et al. Tissue-based immune monitoring II: Multiple tumor sites reveal immunologic homogeneity in serous ovarian carcinoma. **Cancer Biol. Ther.**, Georgetown, v. 12, n. 4, p. 367-377, 2011.
- HAO, X.P.; PRETLOW, T.G.; RAO, J.S. et al. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) is expressed similarly in multiple aberrant crypt foci and colorectal tumors from the same patients. **Cancer Res.**, Baltimore, v. 61, n. 2, p. 419-422, 2001.
- HAMBLIN, A. S. **Cytokines and cytokine receptors**. 2. ed. New York: Oxford University Press, 1993.
- HATAKEYAMA, M.; TSUDI, M.; MINAMOTO, S. et al. Interleukin 2 receptor beta chain gene: generation of the three receptor forms by cloned human alpha and beta chain DNAs. **Science**, London, v. 244, p. 551-556, 1989.
- HEINRICH, P.C.; CASTELL, J.V.; ANDUS, T. Interleukin-6 and the acute phase response. **Biochem J.**, London, v. 265, n. 3, p. 621-636, 1990.
- HELAL, TEL-A; ALLA, A.E.; LABAN, M.A. et al. Immunophenotyping of tumor-infiltrating mononuclear cells in ovarian carcinoma. **Pathol Oncol Res.**, Budapest, v. 10, n. 2, p. 80-4, 2004.
- HENNESSY, B. T.; COLEMAN, R. L.; MARKMAN, M. Ovarian cancer. **Lancet**, London, v. 374, p. 1374-1382, 2009.
- HIRASHIMA, K.; WATANABE, M.; SHIGAKI, H. et al. Prognostic significance of the modified Glasgow prognostic score in elderly patients with gastric cancer. **J. Gastroenterol.**, Tokyo, v. 49, p. 1040-1046, 2014.
- HOLSCHNEIDER, C. H., BEREK, J. S. Ovarian cancer: epidemiology, biology, and prognostic factors. **Semin. Surg. Oncol.**, New York, v. 19, p. 3-10, 2000.
- HONN, K.V.; TANG, D.G.; CRISSMAN, J.D. Platelets and cancer metastasis: a causal relationship? **Cancer Metastasis Rev.**, Boston, v. 11, p. 325-51, 1992.
- HUANG, S.; MILLS, L.; MIAN, B. et al. Fully humanized neutralizing antibodies to interleukin-8 (ABX-IL-8) inhibit angiogenesis, tumor growth, and metastasis of human melanoma. **Am. J. Pathol.**, New York, v. 161, n. 1, p. 125-134, 2002.
- IGNARRO, L. **Nitric oxide biology and pathobiology**. New York: Academic Press, 2000.

INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Ministério da Saúde - Rio de Janeiro, Brasil. **Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2016 - Incidência de câncer no Brasil**. INCA, 2015. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/estimativa-2016-v11.pdf>>. Acesso em: 11/04/2017.

INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Ministério da Saúde - Rio de Janeiro, Brasil. **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer**. INCA, 2011. Disponível em <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/abc_do_cancer.pdf>. Acesso em: 17/08/2016.

INGERSOLL, S.B.; PATEL, S.; CABALLERO, L. et al. Synergistic cytotoxicity of interferonalpha-2b and interleukin-2 in combination with PBMC against ovarian cancer: development of an experimental model for cellular therapy. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 112, n. 1, p. 192-198, 2009.

ISCHIROPOULOS, H.; BECKMAN, J.S. Oxidative stress and nitration in neurodegeneration: Cause, effect, or association? **J. Clin. Invest.**, New York, v. 111, n. 2, p. 163-169, 2003.

KAIJSER, J.; BOURNE, T.; VALENTIN, L. et al. Improving strategies for diagnosing ovarian cancer: a summary of the International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) studies. **Ultrasound. Obstet. Gynecol.**, Carnforth, v. 41, p. 9-20, 2013.

KAMINUMA, O.; MORI, A.; KITAMURA, N. et al. Role of GATA-3 in IL-5 gene transcription by CD4+ T cells of asthmatic patients. **Int. arch. allergy immunol.**, Basel, v. 137, Suppl 1, p. 55-59, 2005.

KASSIM, S.K.; EL-SALAHY, E.M.; FAYED, S.T. et al. Vascular endothelial growth factor and interleukin-8 are associated with poor prognosis in epithelial ovarian cancer patients. **Clin. Biochem.**, Toronto, v. 37, n. 5, p. 363-369, 2004.

KEHOE, S.; POWELL, J.; WILSON, S. et al. The influence of the operating surgeon's specialization on patients survival in ovarian carcinoma. **Br. J. Cancer**, London, v. 70, p. 1014-1017, 1994.

KISIELEWSKI, R.; TOLWIŃSKA, A.; MAZUREK, A. et al. Inflammation and ovarian cancer-current views. **Ginekol. Pol.**, Warsaw, v. 84, n. 4, p. 293-297, 2013.

KLEINERT, H.; SCHWARZ, P.M.; FORSTERMANN, U. Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase. **Biol. Chem.**, Berlin, v. 384, n. 10-11, p. 1343-1364, 2003.

KLOTZ, T.; BLOCH, W.; VOLBERG, C. et al. Selective expression of inducible nitric oxide synthase in human prostate carcinoma. **Cancer**, Philadelphia, v. 82, n. 10, p. 1897-1903, 1998.

KÖBEL, M.; KALLOGER, S.E.; BOYD, N. et al. Ovarian carcinoma subtypes are different 5 diseases: implications for biomarker studies. **PLOS Medicine**, v. 5, n. 12, p. 1749-1760, 2008.

- KOVACS, E. The serum levels of IL-12 and IL-16 in cancer patients. Relation to the tumour stage and previous therapy. **Biomed. Pharmacother.**, Paris, v. 55, p. 111-116, 2001.
- KOZŁOWSKI, L.; ZAKRZEWSKA, I.; TOKAJUK, P. et al. Concentration of interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) and interleukin-10 (IL-10) in blood serum of breast cancer patients. **Rocz. Akad. Med. Białymst.**, Białystok, v. 48, p. 82-84, 2003.
- KULBE, H.; CHAKRAVARTY, P.; LEINSTER, D.A. et al. A dynamic inflammatory cytokine network in the human ovarian cancer microenvironment. **Cancer Res.**, Baltimore, v. 72, n. 1, p. 66-75, 2012.
- KURIAN, A.W.; BALISE, R.R.; MCGUIRE, V. et al. Histologic types of epithelial ovarian cancer: have they different risk factors? **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 96, n. 2, p. 520-530, 2005.
- KURMAN RJ, SHIH IeM. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *Am. J. Surg. Pathol.*, New York, v. 34, n. 3, p. 433-443, 2010.
- KURMAN, R.J.; SHIH IeM. Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer shifting the paradigm. **Hum. Pathol.**, Philadelphia, v. 42, n. 7, p. 918-931, 2011.
- KUSUDA, T.; SHIGEMASA, K.; ARIHIRO, K. et al. Relative expression levels of Th1 and Th2 cytokine mRNA are independent prognostic factors in patients with ovarian cancer. **Oncol. Rep.**, Atenas, v. 13, p. 1153-1158, 2005.
- KRISTJÁNSDÓTTIR, B.I.; PARTHEEN, K.; FUNG, E.T. et al. Early inflammatory response in epithelial ovarian tumor cyst fluids. **Cancer Med.**, Oxford, v. 3, p. 1302-1312, 2014.
- LALA, P.K.; CHAKRABORTY, C. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. **Lancet Oncol.**, London, v. 2, n. 3, p. 149-156, 2001.
- LAMKIN, D.M.; LUTGENDORF, S.K.; MCGINN, S. et al. Positive psychosocial factors and NKT cells in ovarian cancer patients. **Brain Behav. Immun.**, San Diego, v. 22, n. 1, p. 65-73, 2008.
- LEROUX, P.D., BERGER, M.S.; ELLIOTT, J.P. et al. Cerebral metastases from ovarian carcinoma. **Cancer**, New York, v. 67, n. 8, p. 2194-2199, Apr. 1991.
- LI, J.; FADARE, O.; XIANG, L. et al. Ovarian serous carcinoma: recent concepts on its origin and carcinogenesis. **J. Hematol. Oncol.**, London, v. 5, p. 8, 2012.
- LIAO, W.; LIN, J.X.; LEONARD, W.J. IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation. **Curr. Opin. Immunol.**, Philadelphia, v. 23, n. 5, p. 598-604, 2011.
- LILIAC, L.; AMALINEI, C.; BALAN, R. et al. Ovarian cancer: insights into genetics and pathogeny. **Histol. Histopathol.**, Murcia, v. 27, n. 6, p. 707-719, 2012.

- LISSEONI, P.; BARNI, S.; ROVELLI, F. et al. The biological significance of soluble interleukin-2 receptors in solid tumors. **Eur. J. Cancer**, Oxford, v. 26, n. 1, p. 33-36, 1990.
- LIU, C.Z.; ZHANG, L.; CHANG, X.H. et al. Overexpression and immunosuppressive functions of transforming growth factor 1, vascular endothelial growth factor and interleukin-10 in epithelial ovarian cancer. **Chin. J. Cancer Res.**, HongKong, v. 24, n. 2, p. 130-137, 2012.
- LO, C.W.; CHEN, M.W.; HSIAO, M. et al. IL-6 trans-signaling in formation and progression of malignant ascites in ovarian cancer. **Cancer Res.**, Baltimore, v. 71, n. 2, p. 424-434, 2011.
- LOKSHIN, A.E.; WINANS, M.; LANDSITTEL, D. et al. Circulating IL-8 and anti-IL-8 autoantibody in patients with ovarian cancer. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 102, p. 244-51, 2006.
- LOWE, D.B.; STORKUS, W.J. Chronic inflammation and immunologic - based constraints in malignant disease. **Immunotherapy**, London, v. 3, p. 1265-1274, 2011.
- MACKAY, F.; LOESTER, H.; STUEBER, D. et al. Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) induced cell adhesion to human endothelial cells is under dominant control of one TNF receptor type, TNF-R55. **J. Exp. Med.**, New York, v. 177, p. 1277-1286, 1993.
- MANTOVANI, A.; ALLAVENA, P.; SICA, A. et al. Cancer - related inflammation. **Nature**, London, v. 454, n. 7203, p. 436-44, 2008.
- MANTOVANI, G.; MACCIÒ, A.; PISANO, M. et al. Tumor-associated lymphomonocytes from neoplastic effusions are immunologically defective in comparison with patient autologous PBMCs but are capable of releasing high amounts of various cytokines. **Int. J. Cancer**, New York, v. 71, n. 5, p. 724-731, 1997.
- MANTOVANI, A.; BOTTAZZI, B.; COLOTTA, F. et al. The origin and function of tumor-associated macrophages. **Immunol. Today**, Cambridge, v. 13, n. 7, p. 265-270, 1992.
- MARSDEN, D. E.; FRIEDLANDER, M. Current Management of Epithelial Ovarian Carcinoma: A Review. **Semin. Surg. Oncol.**, New York, v. 19, p. 11-19, 2000.
- MASOUMI-MOGHADDAM, S.; AMINI, A.; WEI, A.Q. et al. Intratumoral interleukin-6 predicts ascites formation in patients with epithelial ovarian cancer: A potential tool for close monitoring. **J. Ovarian Res.**, London, v. 8, p. 58, 2015.
- MASSI, D.; FRANCHI, A.; SARDI, I. et al. Inducible nitric oxide synthase expression in benign and malignant cutaneous melanocytic lesions. **J. Pathol.**, Edinburgh, v. 194, n. 2, p. 194-200, 2001.
- MATTE, I.; LANE, D.; LAPLANTE, C. et al. Profiling of cytokines in human epithelial ovarian cancer ascites. **Am. J. Cancer Res.**, Madison, v. 2, n. 5, p. 566-580, 2012.

MAYER, A.R.; CHAMBERS, S.K.; GRAVES, E. et al. Ovarian cancer staging: does it require a gynecologic oncologist? **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 47, n. 2, p. 223-227, 1992.

MAYERHOFER, K.; BODNER, K.; BODNER-ADLER, B. et al. Interleukin-8 serum level shift in patients with ovarian carcinoma undergoing paclitaxel-containing chemotherapy. **Cancer**, Philadelphia, v. 91, p. 388-393, 2001.

MENDES, R.V.; MARTINS, A.R.; DE NUCCI, G. et al. Expression of nitric oxide synthase isoforms and nitrotyrosine immunoreactivity by B-cell non-Hodgkin's lymphomas and multiple myeloma. **Histopathology**, Oxford, v. 39, n. 2, p. 172-178, 2001.

MICHEL, T.; FERON, O. Nitric oxide synthases: Which, where, how, and why? **J. Clin. Invest.**, New York, v. 100, n. 9, p. 2146-2152, 1997.

MICHELI, D.C. Quantificação sistêmica de mediadores inflamatórios e da expressão de receptores em neutrófilos em mulheres portadoras de tumor ovariano: efeito do tratamento nas pacientes com neoplasia maligna/Douglas Cobo Micheli. 28/07/2015. 125F. **Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro**, Uberaba, MG, 2015.

MILBURN, M.V.; HASSELL, A.M.; LAMBERT, M.H. et al. A novel dimer configuration revealed by the crystal structure at 2.4 Å resolution of human interleukin-5. **Nature**, London, v. 363, n. 6425, p. 172-176, 1993.

MINARETZIS, D.; TSIONOU, C.; TZIORTZIOTIS, D. et al. Ovarian tumors: prediction of the probability of malignancy by using patient's age and tumor morphologic features with a logistic model. **Gynecol. Obstet. Invest.**, Basel, v. 38, p. 140-144, 1994.

MOCELLIN, S.; BRONTE, V.; NITTI, D. Nitric oxide, a double edged sword in cancer biology: searching for therapeutic opportunities. **Med. Res. Rev.**, New York, v. 27, n. 3, p. 317-352, 2007.

MOCELLIN, S.; MARINCOLA, F.M.; YOUNG, H.A. Interleukin-10 and the immune response against cancer: a counterpoint. **J. Leukoc. Biol.**, Winston-Salem, v. 78, p. 1043-1051, 2005.

MONCADA, S.; PALMER, R.M.J.; HIGGS, E.A. Nitric Oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacol. Rev.**, Baltimore, v. 43, p. 109-142, 1991.

MURDOCH, W.J.; MARTINCHICK, J.F. Oxidative damage to DNA of ovarian surface epithelial cells affected by ovulation: carcinogenic implication and chemoprevention. **Exp. Biol. Med.**, Basel, v. 229, n. 6, p. 546-552, 2004.

MURDOCH, W. J.; MCDONNELL, A. C. Roles of the ovarian surface epithelium in ovulation and carcinogenesis. **Reproduction**, Cambridge, v. 123, n. 6, p. 174-50, June, 2002.

MURTA, E.F.C.; NOMELINI, R.S. Early diagnosis and predictors of malignancy in the evaluation of adnexal mass. **Curr. Opin. Obstet. Gynecol.**, Philadelphia, v. 18, n. 1, p. 14-9, Feb. 2006.

MURTA, E.F.C.; SILVA, C.S.; GOMES, R.A. et al. Ultrasonographic criteria and tumor marker assay are good procedures for the diagnosis of ovarian neoplasia in preselected outpatients. **Eur. J. Gynaecol. Oncol.**, Montreal, v. 25, p. 707-712, 2004.

MURTA, E. F. C.; ANDRADE, J. M.; BIGHETTI, S. Aspectos epidemiológicos do câncer de ovário. **J. Bras. Ginecol.**, Rio de Janeiro, v. 105, p. 269-274, 1995.

NAKAMURA, Y.; YASUOKA, H.; TSUJIMOTO, M. et al. Nitric oxide in breast cancer: induction of vascular endothelial growth factor-C and correlation with metastasis and poor prognosis. **Clin. Cancer Res.**, Philadelphia, v. 12, n. 4, p. 1201-1207, 2006.

NARASIMHAN, K.; CHANGQING, Z.; CHOOLANI, M. Ovarian cancer proteomics: many technologies one goal. **Clin. Proteomics**, London, v. 2, n. 2, p. 195-218, Apr. 2008.

NEGISHI, Y.; FURUNO, K.; SANO, Y. et al. Studies on CA 125, CA 19-9, TPA and IAP as tumor markers in patients with ovarian cancer. **Gan No Rinsho**, Tokyo, v. 31, Suppl 6, p. 655-63, 1985.

NEGUS, R.P.; STAMP, G.W.; HADLEY, J. et al. Quantitative assessment of the leukocyte infiltrate in ovarian cancer and its relationship to the expression of C-C chemokines. **Am. J. Pathol.**, New York, v. 150, n. 5, p. 1723-1734, 1997.

NICOLINI, A.; CARPIB, A.; ROSSI, G. Cytokines in breast cancer. **Cytokine Growth Factor Rev.**, Oxford, v. 17, p. 325-337, 2006.

NIK NN, VANG R, SHIH IeM et al. Origin and pathogenesis of pelvic (ovarian, tubal, and primary peritoneal) serous carcinoma. **Annu. Rev. Pathol.**, Bethesda, v. 9, p. 27-45, 2014.

NISIDA, A. C. T. Câncer de ovário: Importância, epidemiologia e fatores de risco. In: Halbe HW. **Tratado de Ginecologia**. São Paulo: Roca [2000]. p.2242-2245, 2000.

NOMELINI, R.S.; RIBEIRO, L.C.A, TAVARES-MURTA, B.M. et al. Production of nitric oxide and expression of inducible nitric oxide synthase in ovarian cystic tumors. **Mediat. Inflamm.**, New York, v. 2008, n. 186584, 2008.

OMURA, G.A.; BRADY, M.F.; HOMESLEY, H.D. et al: Long-term follow up and prognostic factor analysis in advanced ovarian carcinoma: the Gynecologic Oncology Group experience. **J. Clin. Oncol.**, New York, v. 9, n. 7, p. 1138-1150, 1991.

- OLIVIER, R.I.; LUBSEN-BRANDSMA, M.A., VERHOEF, S. et al. Ca 125 and transvaginalultrasound monitoring in high-risk women cannot prevent the diagnosis of advanced ovarian cancer. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 100, p. 20-26, 2006.
- OLSON, S.H.; MIGNONE, L.; NAKRASEIVE, C. et al. Symptoms of ovarian cancer. **Obstet. Gynecol.**, Hagerstown, v. 98, n. 2, p. 212-217, 2001.
- ORAM, D.H.; JACOBS, I.J.; BRADY, J.L. et al. Early diagnosis of ovarian cancer. **Br. J. Hosp. Med.**, London, v. 44, n. 5, p. 320-324, 1990.
- ORTH, K.; HUNG, J.; GAZDAR, A. et al. Genetic instability in human ovarian cancer cell lines. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, Washington, v. 91, n. 30, p. 9495-9499, Sept. 1994.
- OSE, J.; SCHOCK, H.; TJØNNELAND, A. et al. Inflammatory Markers and Risk of Epithelial Ovarian Cancer by Tumor Subtypes: The EPIC Cohort. **Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.**, Philadelphia, v. 24, n. 6, p. 951-961, 2015.
- OSMERS, R.G.; OSMERS, M.; VON MAYDELL, B. et al. Evaluation of ovarian tumors in postmenopausal women by transvaginal sonography. **Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.**, Amsterdam, v. 77, p. 81-88, 1998.
- OZEL, E.; PEŞTERELI, H.E.; SIMŞEK, T. et al. Expression of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in ovarian surface epithelial carcinomas: is there any correlation with angiogenesis or clinic pathologic parameters? **Int. J. Gynecol. Cancer**, Cambridge, v. 16, n. 2, p. 549-544, 2006.
- PADILLA, L. A.; RADOSEVICH, D.M.; MILAD, M. P. Limitations on the pelvic examination for evaluation of the female pelvic organs. **Int. J. Gynaecol. Obstet.**, Baltimore, v. 88, p. 84-88, 2005.
- PALMER, R.M.; FERRIGE, A.G.; MONCADA, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature**, London, v. 327, p. 524-526, 1987.
- PARKIN, D.; CRUICKSHANK, M. Pathways to the diagnosis of ovarian cancer in the UK: a cohort study in primary care. **Int. J. Gynaecol. Obstet.**, Baltimore, v. 117, n. 1033, 2010.
- PARK, J.Y.; KIM, D.Y.; SUH, D.S. et al. Outcomes of fertility-sparing surgery for invasive epithelial ovarian cancer: oncologic safety and reproductive outcomes. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 110, p. 345-353, 2008.
- PARK, S.W.; LEE, S.G.; SONG, S.H. et al. The effect of nitric oxide on cyclooxygenase-2 (COX-2) overexpression in head and neck cancer cell lines. **Int. J. Cancer**, New York, v. 107, n. 5, p. 729-738, 2003.
- PIEK, J.M.; VAN DIEST, P.J.; ZWEEMER, R.P. et al. Tubal ligation and risk of ovarian cancer. **Lancet**, London, v. 358, n. 9284, p. 844, 2001.

PIVER, M. S.; BARLOW, J. J.; LELE, S. B. Incidence of subclinical metastasis in stage I and II ovarian carcinoma. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 52, n. 1, p. 100-104, 1978.

PRIES, R.; WOLLENBERG, B. Cytokines in head and neck cancer. **Cytokine Growth Factor Rev.**, Oxford, v. 17, p. 141-146, 2006.

PYLVÄS-EEROLA M, KARIHTALA P, PUISTOLA U. Preoperative serum 8-hydroxydeoxyguanosine is associated with chemoresistance and is a powerful prognostic factor in endometrioid-type epithelial ovarian cancer. **BMC Cancer.**, London, v. 15, p. 493, 2015.

QIN, Y.; WANG, P.; HUANG, Z. et al. The value of red cell distribution width in patients with ovarian cancer. **Medicine**, London, v. 96, n. 17, p. 6752, 2017.

RASOOL M, MALIK A, BASIT ASHRAF MA et al. Evaluation of Matrix Metalloproteinases, Cytokines and Their Potential Role in the Development of Ovarian Cancer. **PLoS One**, San Francisco, v. 11, n. 11, 2016.

RASPOLLINI, M.R.; AMUNNI, G.; VILLANUCCI, A. et al. Expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in ovarian cancer: correlation with clinical outcome. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 92, n. 3, p. 806-812, 2004.

REIS, F. J. C. Rastreamento e diagnóstico das neoplasias de ovário – papel dos marcadores tumorais. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 4, p. 222-227, 2005.

RICCI, M.D.; PIATO, J.R.M.; PIATO, S. et al. **Oncologia ginecológica: aspectos atuais do diagnóstico e do tratamento**. Barueri: Manole, 2008.

RIDNOUR, L.A.; THOMAS, D.D.; SWITZER, C. et al. Molecular mechanisms for discrete nitric oxide levels in cancer. **Nitric Oxide**, Orlando, v. 19, p. 73-76, 2008.

RIVOIRE, W.A.; APPEL, M.; MÔNEGO, H. et al. Neoplasias de ovário e de trompa de Falópio. In: FREITAS, F. et al. **Rotinas em ginecologia**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. p. 362-384, 2006.

ROETT, M. A.; EVANS, P. Ovarian cancer: an overview. **Am. Fam. Physician.**, Kansas City, v. 80, n. 6, p. 609-616, 2009.

ROMAN, V.; ZHAO, H.; FOURNEAU, J.M. et al. Expression of a functional inducible nitric oxide synthase in hairy cell leukaemia and ESKOL cell line. **Leukemia**, New Jersey, v. 14, n. 4, p. 696-705, 2000.

RUBIN, S. C. Surgery for ovarian cancer. **Hematol. Oncol. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 6, p. 851-865, 1992.

SADŁECKI P, WALENTOWICZ-SADŁECKA M, SZYMAŃSKI W et al. Comparison of VEGF, IL-8 and beta-FGF concentrations in the serum and ascites of patients with ovarian cancer. **Ginekol. Pol.**, Warsaw, p. 82, n. 7, p. 498-502, 2011.

SANTIN, A.D.; BELLONE, S.; RAVAGGI, A. et al. Increased levels of interleukin-10 and transforming growth factor-beta in the plasma and ascitic fluid of patients with advanced ovarian cancer. **BJOG**, Oxford, v. 108, n. 8, p. 804-808, 2001.

SATO, E.; OLSON, S.H.; AHN, J. et al. Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A**, Washington, v. 102, n. 51, p. 18538-18543, 2005.

SCAMBIA, G.; TESTA, U.; BENEDETTI-PANICI P. et al. Prognostic significance of interleukin 6 serum levels in patients with ovarian cancer. **Br. J. Cancer**, London, v. 71, n. 2, p. 354-356, 1995.

SCHMELER, K.M.; SUN, C.C.; BODURKA, D.C. et al. Prophylactic bilateral salpingo-oophorectomy compared with surveillance in women with BRCA mutations. **Obstet. Gynecol.**, Hagerstown, v. 108, n. 3, p. 515-520, 2006.

SCHOUTEN, L.J.; RIVERA, C.; HUNTER, D.J. et al. Height, body mass index, and ovarian 8 cancer: a pooled analysis of 12 cohort studies. **Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.**, Philadelphia, v. 17, n. 4, p. 902-912, 2008.

SCULLY, R. E. Pathology of ovarian cancer precursors. **J. Cell. Biochem.**, New York, v. 23, p. 208-218, 1995.

SETHI, G.; SUNG, B.; AGGARWAL, B.B. TNF: a master switch for inflammation to cancer. **Front. Biosci.**, Tampa, v. 13, p. 5094-5107, 2008.

SINGH M, LOFTUS T, WEBB E et al. Minireview: Regulatory T Cells and Ovarian Cancer. **Immunol. Invest.**, New York, 45, n. 8, p. 712-720, 2016.

SIPAK-SZMIGIEL, O.; WŁODARSKI, P.; RONIN-WALKNOWSKA, E. et al. Serum and peritoneal fluid concentrations of soluble human leukocyte antigen, tumor necrosis factor alpha and interleukin 10 in patients with selected ovarian pathologies. **J. Ovarian Res.**, London, v. 10, p. 25, 2017.

SGO COMMITTEE OPINION. Clinical practice committee estatement on prophylactic salpingo-oophorectomy. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 98, p. 179-181, 2005.

SHERMAN, M.E; MINK, P.J.; CURTIS, R. et al. Survival among women with borderline ovarian tumors and ovarian carcinoma: a population-based analysis. **Cancer**, Philadelphia, v. 100, p. 1045-1052, 2004.

SHI, F. D.; VAN, K. L. Reciprocal regulation between natural killer cells and autoreactive T cells. **Nat. Rev. Immunol.**, London, v. 6, n. 10, p. 751-760, Oct. 2006.

SHIH IeM, KURMAN RJ. Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. **Am. J. Pathol.**, New York, v. 164, n. 5, p. 1511-1518, 2004.

- SIEGEL, R. L., MILLER, K. D., JEMAL, A. Cancer statistics, 2017. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 67, p. 7-30, 2017.
- SILVA, S. S.; AQUINO, T. A. A.; SANTOS, R. M. O paciente com câncer: cognições e emoções a partir do diagnóstico. **Rev. Bras. Ter. Cogn.**, v. 4, n. 2, p. 73-89, 2008.
- SILVA, V. C. E. O impacto da revelação do diagnóstico de câncer na percepção do paciente. **Dissertação de Mestrado – Pós-Graduação em Enfermagem**, Programa interinstitucional USP/ UEL/ UNOPAR, São Paulo, 2005.
- SMITH, H. Clinical management of ovarian cancer [book review]. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 345, n. 2, p. 152-153, 2001.
- STEIN, R. C.; DALGLEISH, A. G. Immunomodulatory agents: the cytokines. **Eur. J. Cancer**, Oxford, v. 30, p. 400-404, 1994.
- STONE, R.L.; NICK, A.M.; MCNEISH, I.A. et al. Paraneoplastic thrombocytosis in ovarian cancer. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 366, p. 610-618, 2012.
- STURGEON, C. Practice guidelines for tumor marker use in the clinic. **Clin. Chem.**, New York, v. 48, n. 8, p. 1151-1159, 2002.
- SWITZER, C.H.; CHENG, R.Y.; RIDNOUR, L.A. et al. Ets-1 is a transcriptional mediator of oncogenic nitric oxide signaling in estrogen receptor-negative breast cancer. **Breast Cancer Res.**, London, v. 14, n. 5, p. R125, 2012.
- SYKES, L.; MACINTYRE, D.A.; YAP, X.J. et al. The Th1:th2 dichotomy of pregnancy and preterm labour. **Mediat. Inflamm.**, New York, v. 2012, p. 967629, 2012.
- SZLOSAREK, P.W.; GRIMSHAW, M.J.; WILBANKS, G.D. et al. Aberrant regulation of argininosuccinate synthetase by TNF-alpha in human epithelial ovarian cancer. **Int. J. Cancer**, New York, v. 121, n. 1, p. 6-11, 2007.
- SZLOSAREK, P.W.; GRIMSHAW, M.J.; KULBE, H. et al. Expression and regulation of tumor necrosis factor alpha in normal and malignant ovarian epithelium. **Mol. Cancer Ther.**, Philadelphia, v. 5, n. 2, p. 382-390, 2006.
- SZPUREK, D.; MOSZYNSKI, R.; ZIETKOWIAK, W. et al. An ultrasonographic morphological index for prediction of ovarian tumor malignancy. **Eur. Gynaecol. Oncol.**, Montreal, v. 26, p. 51-54, 2005.
- SZUBERTA, S.; WOJTOWICZB, A.; MOSZYNSKIA, R. et al. External validation of the IOTA ADNEX model performed by two independent gynecologic centers. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 142, n. 3, p. 490-495, 2016.
- TABIBZADEH, S.S.; POUBOURIDIS, D.; MAY, L.T. et al. Interleukin-6 immunoreactivity in human tumors. **Am. J. Pathol.**, New York, v. 135, n. 3, p. 427-433, 1989.

- TAILOR, A.; JURKOVIC, D.; BOURNE, T.H. et al. Sonographic prediction of malignancy in adnexal masses using an artificial neural network. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, London, v. 106, p. 21-30, 1999
- TAKATSU, K.; TOMINAGA, A.; HARADA, N. et al. T cell-replacing factor (TRF)/interleukin 5 (IL-5) molecular and functional properties. **Immunol Rev.**, Copenhagen, v. 102, p. 107-135, 1988.
- TARTAGLIA, L.A.; AYRES, T.M.; WONG, G.H. et al. A novel domain within the 55 kd TNF receptor signals cell death. **Cell**, Cambridge, v. 74, p. 845-853, 1993.
- TAVARES-MURTA, B.M.; CUNHA, F.Q.; MIRANDA, R. et al. Differential tumor microenvironment in human ovarian cystic tumors. **Tumori**, Milano, v. 90, p. 491-197, 2004.
- TAVASSOLI, F.A.; DEVILEE, P. (Eds.): World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. **IARC Press**, Lyon, 2003
- TRACEY, K.J.; CERAMI, F. A tumor necrosis factor: an update review of its biology. **Crit. Care Med.**, New York, v. 21, p. 415-422, 1993.
- TSAI-TURTON, M.; SANTILLAN, A.; LU, D. et al. p53 autoantibodies, cytokine levels and ovarian carcinogenesis. **Gynecol. Oncol.**, New York, v. 114, n. 1, p. 12-17, 2009.
- TEMPLETON, A.J.; MCNAMARA, M.G.; ŠERUGA, B. et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. **J. Natl. Cancer Inst.**, Cary, v. 106, n. 6, p. 124, 2014.
- THOMAS, D.D.; RIDNOUR, L.A.; ISENBERG, J.S. et al. The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling, **Free Radic. Biol. Med.**, New York, v. 45, p. 18-31, 2008.
- THOMSEN, L.L.; LAWTON, F.G.; KNOWLES, R.G. et al. Nitric oxide synthase activity in human gynecological cancer. **Cancer Res.**, Chicago, v. 54, n. 5, p. 1352-1354, 1994.
- THOMPSON-SNIPES, L.; DHAR, V.; BOND, M.W. et al. Interleukin 10: a novel stimulatory factor mast cells and their progenitors. **J. Exp. Med.**, New York, v. 173, p. 507-510, 1991.
- TIMMERMAN, D.; VAN CALSTER, B.; TESTA, A.C. et al. Ovarian cancer prediction in adnexal masses using ultrasound-based logistic regression models: a temporal and external validation study by the IOTA group. **Ultrasound. Obstet. Gynecol.**, Carnforth, v. 36, p. 226-234, 2010.
- TIMMERMAN, D. The use of mathematical models to evaluate pelvic masses: can they beat an expert operator? **Res. Clin. Obstet. Gynaecol.**, London, v. 18, p. 91-104, 2004.

- TIMMERMAN, D.; SCHWÄRZLER, P.; COLLINS, W.P. et al. Subjective assessment of adnexal masses with the use of ultrasonography: an analysis of interobserver variability and experience. **Ultrasound. Obstet. Gynecol.**, Carnforth, v. 13, p. 11-16, 1999.
- TITUS-ERNSTOFF, L.; PEREZ, K.; CRAMER, D.W. et al. Menstrual and reproductive factors in relation to ovarian cancer risk. **Br. J. Cancer.**, London, v. 84, n. 5, p. 714-721, 2001.
- TOGASHI, K. Ovarian cancer: the clinical role of US, CT, and MRI. **Eur. Radiol.**, Berlin, v. 13, n. 6, p. 87-104, 2003.
- VAKKILA, J.; LOTZE, M.T. Inflammation and necrosis promote tumour growth. **Nat. Rev. Immunol.**, London, v. 4, n. 8, p. 641-648, Aug., 2004.
- VALKO, M.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. **Cell Biochem. Biophys.**, Totowa, v. 266, p. 37-56, 2004.
- VAN CALSTER, B.; VAN HOORDE, K.; VALENTIN, L. et al. International Ovarian Tumour Analysis IOTA Group. Evaluating the risk of ovarian cancer before surgery using the ADNEX model to differentiate between benign, borderline, early and advanced stage invasive, and secondary metastatic tumours: prospective multicenter diagnostic study. **BMJ**, London, v. 349, p. 5920, 2014.
- VAN HOLSBEKE, C.; VAN CALSTER, B.; BOURNE, T. et al. External validation of diagnostic models to estimate the risk of malignancy in adnexal masses. **Clin. Cancer Res.**, Philadelphia, v. 18, p. 815-825, 2012.
- VASCONCELOS, M.; SOUSA, M.M. Conservative surgery in ovarian borderline tumours: a meta-analysis with emphasis on recurrence risk. **Eur. J. Cancer**, Oxford, v. 51, p. 620-631, 2015.
- VENKITARAMAN, A.R. Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. **Cell**, Cambridge, v. 108, n. 2, p. 171-182, 2002.
- VERGOTE, I.; De BRABANTER, J.; FYLES, A. et al. Prognostic importance of degree of differentiation and cyst rupture in stage I invasive epithelial ovarian carcinoma. **Lancet**, London, v. 357, n. 9251, p. 176-182, 2001.
- VRABIE, C.D.; PETRESCU, A.; WALLER, M.; DINA, I. Clinical factors and biomarkers in ovarian tumors development. **Rom. J. Morphol. Embryol.**, Bucuresti, v. 49, n. 3, p. 327-338, 2008.
- VURAL, P.; DEĞIRMENCIOĞLU, S.; SARAL, N.Y. et al. Tumor necrosis factor alpha (-308), interleukin-6 (-174) and interleukin-10 (-1082) gene polymorphisms in polycystic ovary syndrome. **Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.**, Amsterdam, v. 150, n. 1, p. 61-65, 2010.
- XIE, K. Interleukin-8 and human cancer biology. **Cytokine Growth Factor. Rev.**, Oxford, v. 12, n. 375-391, 2001.

XIE, K.; FIDLER, I.J. Therapy of cancer metastasis by activation of the inducible nitric oxide synthase. **Cancer Metastasis Rev.**, Boston, v. 17, n. 1, p. 55-75, Mar. 1998.

XU, L.; FIDLER, I.J. Interleukin 8: an autocrine growth factor for human ovarian cancer. **Oncol. Res.**, Elmsford, v. 12, p. 97-106, 2000.

XU, W.; LIU, L.Z.; LOIZIDOU, M. et al. The role of nitric oxide in cancer. **Cell Res.**, Beijing, v. 12, n. 5-6, p. 311-320, 2002.

WANG, Y.; XU, R.C.; ZHANG, X.L. et al. Interleukin-8 secretion by ovarian cancer cells increases anchorage-independent growth, proliferation, angiogenic potential, adhesion and invasion. **Cytokine**, San Diego, v. 59, p. 145-155, 2012.

WANG, Y.; NIU, X.L.; QU, Y. et al. Autocrine production of interleukin-6 confers cisplatin and paclitaxel resistance in ovarian cancer cells. **Cancer Lett.**, Virginia, v. 295, n. 1, p. 110-123, 2010.

WATANABE, T.; SHIBATA, M.; NISHIYAMA, H. et al. Serum Levels of Rapid Turnover Proteins Are Decreased and Related to Systemic Inflammation in Patients with Ovarian Cancer. **Oncology Letters**, New York, v. 7, n. 2, p. 373-377, 2014.

WAXMAN, J.; BALKWILL, F. Interleukin 2. **Black-well Sci. Publ.** Oxford. 1992.

WILSON, K.T.; FU, S.; RAMANUJAM, K.S. et al. Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in Barrett's esophagus and associated adenocarcinomas. **Cancer Res.**, Baltimore, v. 58, n. 14, p. 2929-2934, 1998.

WOODRUFF, J. D. The pathogenesis of ovarian neoplasia. **Johns Hopkins Med. J.**, Baltimore, v. 144, p. 117-120, 1979.

WU, P.C.; LANG, J.H.; HUANG, R.L. et al., Lymph node metastasis and retroperitoneal lymphadenectomy in ovarian cancer. **Baillieres Clin. Obstet. Gynaecol.**, London, v. 3, p. 143-155, 1986.

WU, X., GROVES, F.D., MCLAUGHLIN, C.C. et al. Cancer incidence patterns among adolescents and young adults in the United States. **Cancer Causes Control**, Oxford, v. 16, n. 3, p. 309-320, 2005.

YAMAGUCHI, N. H. O câncer na visão da oncologia. Em: **M. M. M. J. Carvalho (Org.). Introdução à psiconcologia** (pp. 22-32). São Paulo: Livro pleno, 2002.

YAWN, B.P.; WOLLAN, P.; KLEE, M. et al. Ovarian carcinoma: care and survival in a community-based population. **Clin. Ther.**, Princeton, v. 23, p. 146-159, 2001.

YIGIT, R.; FIGDOR, C.G.; ZUSTERZEEL, P.L. et al. Cytokine analysis as a tool to understand tumour-host interaction in ovarian cancer. **Eur. J. Cancer**, Oxford, v. 47, n. 12, p. 1883- 1889, 2011.

YOSHIDA, K.; MIKI, Y. Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, 22 transcription, and cell cycle in response to DNA damage. **Cancer Sci.**, Tokyo, v. 95, n. 11, p. 866-871, 2004.

ZANG, R.Y.; LI, Z.T.; ZHANG, Z.Y. et al. Surgery and salvage chemotherapy for Chinese women with recurrent advanced epithelial ovarian carcinoma: a retrospective case-control study. **Int. J. Gynecol. Cancer**, Cambridge, v. 13, n. 4, p. 419-127, 2003.

ZANETTA, G.; ROTA, S.; CHIARI, S. The accuracy of staging: An important prognostic determinant in stage I ovarian carcinoma. A multivariate analysis. **Ann. Oncol.**, Dordrecht, v. 9, p. 1097-1101, 1998.

ZAJICEK, J. Prevention of ovarian cystomas by inhibition of ovulation: a new concept. **J. Reprod. Med.**, Chicago, v. 20, n. 2, p. 114, 1978.

ZEPPERINICK, F.; MEINHOLD-HEERLEIN, I. The new FIGO staging system for ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer. **Arch Gynecol Obstet.**, Munchen, v. 290, n. 5, p. 839-842, 2014.

ZHANG, L.; CONEJO-GARCIA, J.R.; KATSAROS, D. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 348, p. 203-213, 2003.

ZHOU, J.Y.E.; CHEN, H.; GAN, N. The expression of interleukin-10 in patients with primary ovarian epithelial carcinoma and in ovarian carcinoma cell lines. **J. Int. Med. Res.**, Northampton, v. 35, n. 3, p. 290-300, 2007.

ZWAHLEN, R.; WALZ, A.; ROT, A. In vitro and in vivo activity and pathophysiology of human interleukin-8 and related peptides. **Int. J. Exp. Pathol.**, Oxford, v. 34, p. 27-42, 1993.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO E ESCLARECIMENTO

TÍTULO DO PROJETO: “Avaliação de parâmetros da resposta inflamatória em neoplasias ovarianas”

Eu,.....
....., Registro Hospitalar nº, li e/ou ouvi o esclarecimento acima e compreendi para que serve o estudo e qual procedimento a que serei submetido. A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento, sem justificar minha decisão e que isso não afetará meu tratamento. Sei que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro por participar do estudo. Eu concordo em participar do estudo e autorizo a publicação em forma de artigo científico sobre minha doença.

Uberaba,//.....

Assinatura do voluntário ou seu responsável legal

Documento de identidade

Assinatura do pesquisador responsável

Assinatura do pesquisador orientador

Telefone de contato da paciente: _____

Telefone de contato dos pesquisadores: 34-3318-5326

APÊNDICE B – CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DOS TUMORES OVARIANOS
SEGUNDO A OMS

1 TUMORES EPITELIAIS COMUNS

1.1 TUMORES SEROSOS

1.1.1 Benignos

1.1.1.1 Cistoadenoma e cistoadenoma papilífero

1.1.1.2 Papiloma superficial

1.1.1.3 Adenofibroma e cistoadenoma fibroma

1.1.2 Borderline

1.1.2.1 Cistoadenoma e cistoadenoma papilífero

1.1.2.2 Papiloma superficial

1.1.2.3 Adenofibroma e cistoadenofibroma

1.1.3 Malignos

1.1.3.1 Adenocarcinoma, adenocarcinoma papilífero e cistoadenocarcinoma papilífero

1.1.3.2 Carcinoma papilífero superficial

1.1.3.3 Adenofibroma maligno e cistoadenofibroma

1.2 TUMORES MUCINOSOS

1.2.1 Benignos

1.2.1.1 Adenoma e cistoadenoma

1.2.1.2 Adenofibroma e cistoadenofibroma

1.2.2 Borderline

1.2.2.1 Adenoma e cistoadenoma

1.2.2.2 Adenofibroma e cistoadenofibroma

1.2.3 Malignos

1.2.3.1 Adenocarcinoma e cistoadenocarcinoma

1.2.3.2 Adenofibroma maligno e cistoadenofibroma

1.3 TUMORES ENDOMETRIÓIDES**1.3.1 Benignos**

1.3.1.1 Adenoma e cistoadenoma

1.3.1.2 Adenofibroma e cistoadenofibroma

1.3.2 Borderline

1.3.2.1 Adenoma e cistoadenoma

1.3.2.2 Adenofibroma e cistoadenofibroma

1.3.3 Malignos

1.3.3.1 Carcinoma

1.3.3.1.1 Adenocarcinoma

1.3.3.1.2 Adenoacantoma

1.3.3.1.3 Adenofibroma maligno

1.3.3.2 Sarcomas do estroma endometrióide

1.3.3.3 Tumores mesodérmicos mistos

1.4 TUMORES DAS CÉLULAS CLARAS (MESONEFRÓIDE)**1.4.1 Benignos: adenofibroma****1.4.2 Borderline****1.4.3 Malignos: adenocarcinoma e carcinoma****1.5 TUMORES DE BRENNER****1.5.1 Benignos**

1.5.2 Borderline**1.5.3 Malignos**

1.6 TUMORES EPITELIAIS MISTOS

1.6.1 Benignos**1.6.2 Borderline****1.6.3 Malignos**

1.7 CARCINOMAS INDIFERENCIADOS

1.8 TUMORES EPITELIAIS NÃO ESPECIFICADOS

2 TUMORES DOS CORDÕES SEXUAIS

2.1 TUMORES DAS CÉLULAS DA GRANULOSAS-ESTROMÁTICAS

2.1.1 Tumores de células granulosas**2.1.2 Tumores do grupo tecoma-fibroma**

2.2 ANDROBLASTOMAS (TUMORES DE SERTÓLIO-LEYDIG)

2.3 GINANDROBLASTOMAS

2.4 NÃO CLASSIFICADOS

3 TUMORES DE CÉLULAS LIPOÍDICAS

4 TUMORES DE CÉLULAS GERMINATIVAS

4.1 DISGERMINOMAS

4.2 TUMORES DO SEIO ENDODÉRMICO

4.3 CARCINOMA EMBRIONÁRIO

4.4 POLIEMBRIOMA

4.5 CORIOCARCINOMA

4.6 TERATOMAS

4.6.1 Imaturos

4.6.2 Maduros

4.6.2.1 Sólidos

4.6.2.2 Císticos

4.6.2.2.1 Cistos dermóides

4.6.2.2.2 Cisto dermóide com transformação maligna

4.6.3 Especializados

4.6.3.1 Struma ovarii

4.6.3.2 Carcinóide

4.6.3.3 Outros

4.7 FORMAS MISTAS

5 GONADOBLASTOMAS

5.1 PUROS

5.2 MISTOS

6 TUMORES DE TECIDOS MOLES INESPECÍFICOS DO OVÁRIO

7 TUMORES NÃO CLASSIFICADOS

8 TUMORES METASTÁTICOS

9 LESÕES TUMOR-SÍMILES

9.1 LUTEOMA GRAVÍDICO

9.2 HIPERPLASIA DO ESTROMA OVARIANO E HIPERTECOSE

9.3 EDEMA MACIÇO

9.4 CISTOS FOLICULARES SOLITÁRIOS E DE CORPO LÚTEO

9.5 OVÁRIOS POLICÍSTICOS

9.6 CISTOS LUTEÍNICOS MÚLTIPLOS

9.7 ENDOMETRIOSE

9.8 INCLUSÕES CÍSTICAS DA SUPERFÍCIE EPITELIAL

9.9 CISTOS SIMPLES

9.10 LESÕES INFLAMATÓRIAS

9.11 CISTOS PARAOVARIANOS

APÊNDICE C – TAMPÕES E REAGENTES PARA A DOSAGEM DOS METABÓLITOS
DO NO – REAÇÃO DE *GRIESS*

a) Tampão de ensaio para a enzima nitrato redutase

Para 10 mL:

NADPH (Sigma)	10,0 mg
Nitrato redutase (Sigma)	4,0 U
KH ₂ PO ₄ (pH 7,5; Merck)	4,0 mL (0,5 M)
Água Mili-Q q.s.p.	10,0 mL

b) Reagente de *Griess*

Solução A

Sulfanilamida 2% (Sigma)	0,5 g
H ₃ PO ₄ 5% (Merck)	25,0 mL

Solução B

N-1-nafitil etilenodiamino dihidroclorato 0,2% (Sigma)	0,05 g
Água Mili-Q	25,0 mL

Solução C

H ₃ PO ₄ 5% (Merck)	25,0 mL
Água Mili-Q	50,0 mL

Como estoque estas soluções foram armazenadas a 4°C. Para dosagem foi misturada uma parte da solução A, uma parte da solução B, uma parte da solução C e uma parte da água Mili-Q.

APÊNDICE D – CITOCINAS E ANTICORPOS

- a) Anticorpos purificados (Pharmlngen): anti-IL-6, anti-IL-8, anti-IL-10 e anti-TNF- α . Anticorpos primários utilizados durante a realização do ELISA.

- b) Citocinas derivadas de DNA recombinante humano (Pharmlngen): IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- α . Citocinas utilizadas para realização da curva-padrão durante o ELISA.

- c) Anticorpos biotinizados anti-citocinas (Pharmlngen): anti-IL-6, anti-IL-8, anti-IL-10 e anti-TNF- α . Anticorpos secundários utilizados durante a realização do ELISA.

ANEXO A – IDENTIFICAÇÃO DO GRUPO DAS PACIENTES COM TUMORES NÃO
NEOPLASICOS DE OVÁRIO QUANTO A IDADE E AO DIAGNÓSTICO
HISTOLÓGICO

Paciente	Idade	Diagnóstico Histológico
P001	53	Cisto de Inclusão
P002	35	Cisto Folicular
P004	60	Cisto Simples
P005	49	Cisto Folicular
P006	47	Corpo Lúteo Hemorrágico
P011	52	Cisto Teca Luteínico
P031	44	Cisto Teca Luteínico
P036	59	Cisto Teca Luteínico
P042	82	Cisto Simples
P045	45	Cisto Simples
P060	45	Cisto Folicular
P092	54	Cisto Simples
P093	87	Cisto Simples
P110	34	Cisto Simples
P139	40	Cisto Teca Luteínico
P156	46	Cisto Simples
P161	38	Cisto Simples

Fonte: O autor, 2017.

ANEXO B – IDENTIFICAÇÃO DO GRUPO DAS PACIENTES COM NEOPLASIA
BENIGNA DE OVÁRIO QUANTO A IDADE E AO DIAGNÓSTICO
HISTOLÓGICO

Paciente	Idade	Diagnóstico Histológico	Paciente	Idade	Diagnóstico Histológico
P009	18	Cistoadenoma Seroso	P129	39	Cistoadenoma Seroso
P010	52	Cistoadenoma Seroso	P131	75	Cistoadenoma Seroso
P022	52	Cistoadenoma Mucinoso	P132	52	Cistoadenoma Mucinoso
P025	46	Cistoadenoma Mucinoso	P134	63	Teratoma Cístico Maduro
P027	45	Cistoadenoma Seroso	P135	39	Cistoadenoma Seroso
P029	35	Teratoma Cístico Maduro	P136	59	Cistoadenoma Seroso
P032	72	Cistoadenoma Mucinoso	P137	29	Teratoma Cístico Maduro
P038	11	Teratoma Cístico Maduro	P138	49	Cistoadenoma Seroso
P043	51	Cistoadenoma Seroso	P140	20	Teratoma Cístico Maduro
P047	49	Cistoadenoma Mucinoso	P141	49	Cistoadenoma Seroso
P048	65	Cistoadenoma Seroso	P142	62	Cistoadenoma Mucinoso
P050	32	Cistoadenoma Seroso	P147	50	Cistoadenoma Mucinoso
P053	18	Teratoma Cístico Maduro	P148	77	Cistoadenoma Mucinoso
P054	52	Cistoadenoma Mucinoso	P149	63	Cistoadenoma Mucinoso
P061	52	Cistoadenoma Seroso	P155	28	Cistoadenoma Seroso
P062	47	Teratoma Cístico Maduro	P157	48	Cistoadenoma Seroso
P063	57	Teratoma Cístico Maduro	P162	67	Cistoadenoma Seroso
P065	42	Cistoadenoma Mucinoso	P165	46	Cistoadenoma Seroso
P067	28	Teratoma Cístico Maduro	P166	56	Teratoma Cístico Maduro
P069	47	Teratoma Cístico Maduro	P168	19	Teratoma Cístico Maduro
P073	60	Cistoadenoma Mucinoso	P169	58	Cistoadenoma Seroso
P078	60	Teratoma Cístico Maduro	P170	42	Cistoadenoma Seroso
P083	53	Cistoadenoma Mucinoso	P171	35	Teratoma Cístico Maduro
P088	36	Cistoadenoma Seroso	P175	66	Cistoadenoma Seroso
P089	46	Teratoma Cístico Maduro	P179	52	Cistoadenoma Mucinoso
P094	36	Teratoma Cístico Maduro	P183	51	Cistoadenoma Seroso
P109	54	Cistoadenoma Seroso	P184	35	Teratoma Cístico Maduro
P111	25	Cistoadenoma Mucinoso	P185	71	Teratoma Cístico Maduro
P112	45	Cistoadenoma Mucinoso	P192	61	Cistoadenoma Seroso
P118	53	Cistoadenoma Mucinoso	P194	48	Teratoma Cístico Maduro
P119	39	Cistoadenoma Mucinoso	P197	55	Cistoadenoma Seroso
P120	30	Cistoadenoma Seroso	P204	65	Cistoadenoma Mucinoso
P123	36	Cistoadenoma Seroso	P205	55	Cistoadenoma Seroso
P124	31	Teratoma Cístico Maduro	P206	35	Cistoadenoma Seroso
P125	56	Cistoadenoma Seroso	P207	73	Cistoadenoma Seroso
P127	62	Cistoadenoma Mucinoso	P208		

Fonte: O autor, 2017.

ANEXO C – IDENTIFICAÇÃO DO GRUPO DAS PACIENTES COM NEOPLASIA MALIGNA DE OVÁRIO QUANTO A IDADE E AO DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO

Paciente	Idade	Diagnóstico Histológico
P016	58	Cistoadenocarcinoma Seroso
P017	62	Tumor de Células da Granulosa
P028	51	Adenocarcinoma Endometrióide
P035	59	Tumor de Células da Granulosa
P040	39	Tumor Mucinoso Borderline
P056	68	Cistoadenocarcinoma Seroso
P066	65	Tumor Mucinoso Borderline
P070	53	Tumor Mucinoso Borderline
P076	37	Cistoadenocarcinoma Seroso
P084	35	Teratoma Imaturo
P095	52	Tumor Mucinoso Borderline
P097	75	Cistoadenocarcinoma Seroso
P098	54	Adenocarcinoma de Células Claras
P108	60	Cistoadenocarcinoma Seroso
P115	60	Tumor Seroso Borderline
P126	57	Tumor Mucinoso Borderline
P143	51	Cistoadenocarcinoma Seroso
P145	82	Adenocarcinoma de Células Claras
P163	71	Tumor de Células da Granulosa
P178	79	Tumor Mucinoso Borderline
P186	74	Tumor de Células da Granulosa
P198	34	Tumor Seroso Borderline

Fonte: O autor, 2017.

ANEXO D – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP; PARECER
CONSUBSTANCIADO DE APROVAÇÃO DE PROJETO DE
PESQUISA



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO – Uberaba(MG)
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-CEP
Parecer Consubstanciado
PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS

IDENTIFICAÇÃO

**TÍTULO DO PROJETO: AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM
NEOPLASIAS OVARIANAS**
PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: Rosekeila Simões Nomelini
INSTITUIÇÃO ONDE SE REALIZARÁ A PESQUISA: UFTM
DATA DE ENTRADA NO CEP/UFTM: 08-07-2009
PROTOCOLO CEP/UFTM: 1408

SUMÁRIO DO PROJETO

1. OBJETIVOS

1. Verificar se há diferenças na dosagem de citocinas (padrão TH1: IL-2, IL-8, IFN- γ e TNF- α ; padrão TH2: IL-5, IL-6 e IL-10) e metabólitos de óxido nítrico (NO) no microambiente tumoral e no plasma entre neoplasias benignas e malignas primárias de ovário.
2. Verificar se há diferenças na marcação tecidual por imunohistoquímica de citocinas (padrão TH1: IL-2, IL-8, IFN- γ e TNF- α ; padrão TH2: IL-5, IL-6 e IL-10) e sintase de óxido nítrico (NOS), bem como células imunológicas no tecido (CD4, CD8, CD20, CD25, CD56) entre neoplasias benignas e malignas primárias de ovário.
3. Avaliar se há diferenças na capacidade de resposta inflamatória (atividade fagocítica) de neutrófilos de pacientes com neoplasias benignas e malignas primárias de ovário.
4. Avaliar a expressão dos receptores CXCR1, CXCR2 e CD11b na superfície de neutrófilos circulantes de pacientes com neoplasias ovarianas benignas e malignas, e verificar se existem diferenças na expressão desses receptores quanto ao estágio da doença, no caso de neoplasias malignas.
5. Relacionar a dosagem de citocinas e metabólitos de NO do microambiente tumoral e plasma com parâmetros clínicos e patológicos de pacientes com neoplasia maligna primária de ovário. Este objetivo (exceto plasma) já estava previsto em projeto anterior enviado ao CEP (protocolo número 1366).
6. Relacionar a marcação tecidual por imunohistoquímica de citocinas e NOS, bem como células imunológicas no tecido (CD4, CD8, CD20, CD25, CD56) com parâmetros clínicos e patológicos de pacientes com neoplasia maligna primária de ovário. Este objetivo já estava previsto em projeto anterior enviado ao CEP (protocolo número 1366).
7. Avaliar o efeito do tratamento (cirurgia e quimioterapia) sobre os parâmetros descritos acima (dosagem de citocinas e NO, expressão de citocinas, NOSi e células teciduais, fagocitose, expressão dos receptores CXCR1, CXCR2 e CD11b na superfície de neutrófilos).

2. JUSTIFICATIVA

O câncer de ovário é a nona neoplasia maligna mais frequente e a quinta causa de morte por câncer em mulheres nos estados unidos (American Cancer Society, 2009). a maioria dos tumores malignos de ovário apresenta-se em estádios avançados ao diagnóstico, sendo o câncer ginecológico de maior letalidade (Inca, 2008). Cerca de 5 a 10% dos tumores em estádio aparentemente inicial já apresentam metástases em linfonodos aórticos ou pélvicos e, na doença avançada, cerca de dois terços apresentam essas metástases (Rubin, 1992, Murta et al., 1995). A principal estratégia terapêutica é a cirurgia de citorredução, seguida de quimioterapia. apesar dos esquemas quimioterápicos derivados da platina e dos taxanos, a sobrevida em 5 anos nos estádios iii e iv é de apenas 5 a 15%, enquanto que nos estádios i e ii varia de 80 a 95% (dorum et al., 1996; yawn et al., 2001).

A sensibilidade e a especificidade do exame ginecológico para o rastreamento de neoplasias ovarianas são questionáveis (Murta et al., 2004; Padilla et al., 2005). A ultrassonografia pode ajudar no diagnóstico de tumores ovarianos e na diferenciação entre tumores neoplásicos e não neoplásicos (Minaretzis et al., 1994, Osmer et al. 1998), sendo que o *color Doppler* pode aumentar a especificidade da ultrassonografia transvaginal (Guerriero et al., 2005; Szperek et al., 2005). Porém, o diagnóstico precoce de câncer ovariano pela ultrassonografia ainda é controverso devido à sua baixa prevalência na população geral, dificultando o rastreamento (U.S. PREVENTIVE SERVICES TASK FORCE, 2004; Fishman et al., 2005).

Os marcadores tumorais podem ser úteis no manejo de massas anexiais. Os marcadores CA-15.3, CA-125, CA-19.9 e CEA apresentam alta positividade tanto no soro quanto no fluido intracístico de pacientes com tumores epiteliais malignos



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO – Uberaba(MG)
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-CEP
Parecer Consubstanciado
PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS

IDENTIFICAÇÃO

TÍTULO DO PROJETO: AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM NEOPLASIAS OVARIANAS
PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: Rosekeila Simões Nomelini
INSTITUIÇÃO ONDE SE REALIZARÁ A PESQUISA: UFTM
DATA DE ENTRADA NO CEP/UFTM: 08-07-2009
PROTOCOLO CEP/UFTM: 1408

Observação: Todos os equipamentos já se encontram disponíveis nas Disciplinas de Patologia Especial, Farmacologia e Ginecologia e Obstetrícia - IPON. Os materiais de consumo serão financiados por recursos obtidos pela aprovação no Edital Universal da FUNEPU 2009.

12. FORMA E VALOR DA REMUNERAÇÃO DO PESQUISADOR

Salário de professor adjunto.

13. ADEQUAÇÃO DO TERMO DE CONSENTIMENTO E FORMA DE OBTÊ-LO

O consentimento livre e esclarecido será obtido no momento da internação pré-cirúrgica pelo aluno da pós-graduação que está participando do estudo.

14. ESTRUTURA DO PROTOCOLO – O protocolo foi adequado para atender às determinações da Resolução CNS 196/96.

15. COMENTÁRIOS DO RELATOR, FRENTE À RESOLUÇÃO CNS 196/96 E COMPLEMENTARES

PARECER DO CEP: APROVADO

(O relatório anual ou final deverá ser encaminhado um ano após o início do processo).

DATA DA REUNIÃO: 30-10-2009


Prof. Ana Palmira Soares dos Santos
Coordenadora