



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

PAULA CAROLINA ARVELOS CRISPIM

Papel das interleucinas nos endometriomas e neoplasias ovarianas

UBERABA – MG

2020

PAULA CAROLINA ARVELOS CRISPIM

Papel das interleucinas nos endometriomas e neoplasias ovarianas

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde, área de concentração em “Medicina Translacional”, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para a obtenção de título de Mestra.

Orientadora: Profa. Dra. Rosekeila Simões Nomelini

Coorientador: Prof. Dr. Eddie Fernando Candido Murta

UBERABA – MG

2020

Catálogo na fonte:**Biblioteca da Universidade Federal do Triângulo Mineiro**

C949p Crispim, Paula Carolina Arvelos
Papel das interleucinas nos endometriomas e neoplasias ovarianas / Paula Carolina Arvelos Crispim. -- 2020.
68 p.: il., graf., tab.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) -- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2020
Orientadora: Profa. Dra. Rosekeila Simões Nomelini
Coorientador: Prof. Dr. Eddie Fernando Candido Murta

1. Endometriose. 2. Neoplasias ovarianas. 3. Imunologia. 4. Interleucinas. I. Nomelini, Rosekeila Simões. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 618.14-002

PAULA CAROLINA ARVELOS CRISPIM

Papel das interleucinas nos endometriomas e neoplasias ovarianas

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde, área de concentração em “Medicina Translacional”, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para a obtenção de título de Mestre.

Uberaba (MG), 29 de fevereiro de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Rosekeila Simões Nomelini - Orientadora
Universidade Federal do Triângulo Mineiro/UFTM

Profa. Dra. Renata Margarida Etchebehere
Universidade Federal do Triângulo Mineiro/UFTM

Prof. Dr. Douglas Reis Abdalla
Faculdade de Talentos Humanos/FACTHUS

*A meus pais, Gladmir e Maria Elizabeth,
Por terem me ensinado a viver com dignidade e caráter. Por terem acreditado em
mim e me apoiado sempre.*

*A vocês, que abriram mão de vários sonhos seus em favor dos meus, que me
incentivaram no caminho dos estudos mesmo diante de tantas dificuldades e
vibraram comigo a cada vitória até aqui.*

*Ao meu marido, Edvaldo Fernandes,
Por estar ao meu lado sempre, compartilhar as dificuldades e as conquistas nessa
caminhada. Todos os meus sonhos tornam-se tangíveis com o seu apoio.
Ainda que minhas responsabilidades lhe impusessem a renúncia à minha presença,
você suportou essa ausência sem se fazer distante.*

*Ao meu filho, José Otávio.
Filho, você tornou-me mais forte desde o momento do seu nascimento.
E se tornou a maior inspiração para eu melhorar sempre!*

*Ao meu irmão, Douglas Crispim,
Por ter sido sempre exemplo, por lutar por seus sonhos.
Por tentar mostrar-me sempre poesia onde o caminho parece árduo.*

À minha orientadora, Dra. Rosekeila,
*Pela disponibilidade em ensinar a todo momento. Pela confiança e incentivo. Pelo
exemplo que é de dedicação e humildade.*

Ao meu coorientador, Dr. Eddie,
Obrigada pela oportunidade, pela confiança e aprendizado.

A Deus.

AGRADECIMENTOS

*“As palavras de amizade e conforto podem ser curtas e sucintas, mas o seu eco é
infindável.”*

(Madre Teresa de Calcutá)

À Millena Jamal, pelo companheirismo, amizade e colaboração.

À Marcela Maluf Sanguinete, pela amizade e incentivo sempre.

À professora Beatriz Martins Tavares Murta, por disponibilizar todos os recursos da Disciplina de Farmacologia.

Ao Douglas Cobo Micheli, pelo auxílio no processamento de materiais biológicos e armazenamento dos mesmos.

Aos médicos e residentes da Ginecologia e Obstetrícia, pela paciência e apoio nas cirurgias e coleta de material no bloco cirúrgico.

Aos funcionários da Patologia Cirúrgica, pelo amparo e colaboração.

Às funcionárias da disciplina de Ginecologia e Obstetrícia, pelo apoio e colaboração.

Aos mestres da pós-graduação, pelos grandes ensinamentos, e a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

"Senhor, bem-aventurado o homem que em ti põe a sua confiança."

Salmo 84:12

Este trabalho foi realizado com os recursos financeiros da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), da Fundação de Ensino e Pesquisa de Uberaba (FUNEPU), da Associação de Apoio à Residência Médica de Minas Gerais (AREMG), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

RESUMO

CRISPIM, P. C. A. **Papel das interleucinas nos endometriomas e neoplasias ovarianas. 2019.** 68f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba (MG), 2019.

Introdução: estudos têm mostrado uma relação da endometriose com o câncer de ovário. **Objetivos:** avaliar e comparar as dosagens das citocinas IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- α no soro, líquido intracístico e líquido peritoneal de pacientes com diagnóstico de endometrioma ovariano, neoplasia maligna e benigna de ovário e lesões não neoplásicas de ovário; verificar se há correlação entre os valores dessas citocinas entre o grupo de pacientes com endometrioma de ovário e de pacientes com diagnóstico confirmado de neoplasia maligna ovariana nos diferentes ambientes estudados (soro, líquido intracístico e lavado peritoneal) e também determinar o melhor ponto de corte das interleucinas séricas que poderá ser utilizado na diferenciação de pacientes com neoplasia maligna de ovário e endometrioma. **Materiais e métodos:** este estudo envolveu 153 pacientes, sendo 20 com lesões ovarianas não neoplásicas, 82 com neoplasia benigna, 30 com neoplasia maligna e 21 com endometrioma. As concentrações das citocinas IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- α foram quantificadas pelo *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Os resultados das concentrações das citocinas foram analisados pelo teste de *Kruskal-Wallis*, com o pós-teste de Dunn. Para citocinas que apresentaram significância estatística, foi utilizada uma curva *Receiver Operating Feature* (ROC) para obter a Área sob a Curva (AUC) e determinar os melhores valores de corte que poderiam ser utilizados no diagnóstico de neoplasia maligna de ovário. As correlações das concentrações das citocinas foram realizadas pelo teste *Spearman*. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0.05$. **Resultados:** as concentrações séricas e no líquido intracístico de IL-6 foram maiores em pacientes com neoplasia maligna em comparação às pacientes com neoplasia benigna, assim como no líquido peritoneal, onde as concentrações de IL-6 também foram maiores em pacientes com neoplasia maligna em comparação às pacientes com lesões não neoplásicas de ovário. As concentrações séricas de IL-8 e IL-10 foram maiores nas neoplasias malignas que nos endometriomas. Houve correlação positiva dos níveis de IL-5 no soro e correlação positiva de IL-10 no lavado peritoneal entre os grupos de endometriomas e neoplasias malignas de ovário. Ao avaliar a AUC dos níveis séricos de citocinas,

comparando pacientes com neoplasia maligna e endometriomas, houve significância estatística para IL-6, IL-8 e IL-10. Os valores de corte para essas citocinas foram 5,3, 56,2 e 12,56, respectivamente. **Conclusão:** os resultados com significância estatística mostraram utilidade nas concentrações séricas de IL-6, IL-10 e IL-8 como parâmetros que diferenciam endometriomas de neoplasias malignas de ovário, esboçando a viabilidade da dosagem sérica dessa citocina como um biomarcador a ser utilizado no diagnóstico de uma possível diagnóstico diferencial da endometriose durante o seguimento dessas pacientes.

Palavras-chave: Endometriose. Câncer de Ovário. Imunologia.

ABSTRACT

CRISPIM, P. C. A. **Role of interleukins in endometriomas and ovarian neoplasms.** 2019. 68f. Dissertation (Master in Health Sciences) - Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba (MG), 2019.

Introduction: studies have shown a relationship between endometriosis and ovarian cancer. **Objectives:** were to evaluate and compare the dosages of cytokines IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α in serum, intracystic fluid and peritoneal fluid of patients diagnosed with ovarian endometrioma, malignant and benign ovarian neoplasms, and non-neoplastic ovarian tumors; to verify if there is a correlation between the values of these cytokines between the group of patients with ovarian endometrioma and patients with a confirmed diagnosis of ovarian malignancy, in the different environments studied (serum, intracystic fluid and peritoneal fluid); and to determine the best cutoff point for serum interleukins that can be used to differentiate patients with ovarian malignancy and endometrioma. **Materials and methods:** this study involved 153 patients, 20 with non-neoplastic ovarian lesions, 82 with benign neoplasia, 30 with malignant neoplasia, and 21 with endometrioma. The concentrations of cytokines IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α were quantified by *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Cytokine concentrations were analyzed by *Kruskal-Wallis* test with the Dunn posttest. For cytokines that were statistically significant, a *Receiver Operating Feature* (ROC) curve was used to obtain the Area Under the Curve (AUC) and to determine the best cutoff values that could be used in the diagnosis of ovarian malignancy. Correlations of cytokine concentrations were performed by the Spearman test. Statistical significance was set at $p < 0.05$. **Results:** IL-6 serum and intracystic fluid concentrations were higher in patients with malignant neoplasia compared to patients with benign neoplasia, as well as in peritoneal fluid, where IL-6 concentrations were also higher in patients with malignant neoplasia in compared to patients with non-neoplastic ovarian tumors. Serum IL-8 and IL-10 concentrations were higher in malignant neoplasms than in endometriomas. There was a positive correlation of serum IL-5 levels, and a positive correlation of IL-10 in the peritoneal fluid between groups of endometriomas and ovarian malignancies. When evaluating the AUC of serum cytokine levels comparing patients with malignant neoplasia and endometriomas, there was statistical significance for IL-6, IL-8 and IL-10. The cutoff values for these cytokines were 5.3,

56.2 and 12.56, respectively. **Conclusion:** our results showed utility in serum concentrations of IL-6, IL-10 and IL-8 as parameters that differentiate endometriomas from ovarian malignancies, suggesting the feasibility of serum cytokine dosage as a biomarker to be used in the differential diagnosis of endometriosis during follow-up of these patients.

Key words: Endometriosis, Ovarian Cancer. Immunology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Relação das concentrações séricas de IL-6 (A), IL-8 (B) e IL-10 (C) (mediana, percentis 25 e 75) pelo método ELISA em pacientes com diagnóstico de neoplasias benignas, lesões não neoplásicas de ovário, neoplasias malignas de ovário e endometriomas.....	38
Figura 2	Relação das concentrações de IL-6 no líquido intracístico (A) e no lavado peritoneal (B) (mediana, percentis 25 e 75) em pacientes com diagnóstico de neoplasias benignas, lesões não neoplásicas de ovário, neoplasias malignas de ovário e endometriomas.....	39
Figura 3	Curva ROC de IL-6, IL-8 e IL-10 séricas de pacientes com diagnóstico de endometrioma e neoplasia maligna de ovário....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variáveis quantitativas expressas em mediana (mínimo-máximo) das pacientes do estudo atendidas no Hospital das Clínicas da UFTM. Uberaba-MG. Período de 2009 a 2018.....	35
Tabela 2	Concentração de citocinas no soro, no líquido peritoneal e no líquido intracístico nas lesões não neoplásicas de ovário, neoplasias benignas de ovário, neoplasias malignas de ovário e endometriomas.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS DE SIGLAS

ASRM	<i>American Society for Reproductive Medicine</i>
AUC	Área Sob a Curva
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
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
GM-CSF	Fator de Estimulação de Colônias de Granulócitos-Macrófagos
GnRH	<i>Gonadotropin-Releasing Hormone</i>
HCL	Ácido Clorídrico
HNF-1b	Fator Nuclear de Hepatócito
HRP	Conjugado de Estreptavidina com Peroxidase
IL	Interleucina
IL-1	Interleucina 1
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
IL-13	Interleucina 13
IPON	Instituto de Pesquisa em Oncologia
mRNA	Ácido Ribonucleico Mensageiro
NO	Óxido Nítrico
P53	Proteína Citoplasmática 53
ROC	<i>Receiver Operating Feature</i>
Sil-2	Receptor Solúvel de Interleucina 2
Th1	T-helper 1
Th2	T-helper 2
TMB	Tetrametilbenzidina
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TNF-R	Receptores de Superfície de Membrana para TNF
TNFR1	Receptor 1 do Fator de Necrose Tumoral
TNFR2	Receptor 2 do Fator de Necrose Tumoral
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
UFTM	Universidade Federal do Triângulo Mineiro

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
μL	Microlitro
g/dL	Gramas/Decilitro
mg/dL	Miligramas por decilitro
ml	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanometro
°C	Grau Celsius
rpm	Rotação por minuto
U/ml	Unidade por mililitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
1.1	ENDOMETRIOSE.....	17
1.1.1	Definição e diagnóstico.....	17
1.1.2	Fisiopatologia da endometriose.....	18
1.1.3	Endometriose: classificação.....	21
1.1.4	Endometriose: tratamento.....	21
1.2	ENDOMETRIOSE E CITOCINAS.....	22
1.3	ENDOMETRIOSE E CÂNCER DE OVÁRIO.....	24
2	JUSTIFICATIVA.....	27
3	HIPÓTESE.....	28
4	OBJETIVOS.....	29
5	METODOLOGIA.....	30
5.1	MODELO DE ESTUDO.....	30
5.2	PACIENTES.....	30
5.3	COLETA DE SANGUE.....	31
5.4	COLETA DE LÍQUIDO INTRACÍSTICO E LÍQUIDO PERITONEAL.....	31
5.5	ANATOMOPATOLÓGICO.....	32
5.6	ELISA.....	32
5.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
6	RESULTADOS.....	34
6.1	POPULAÇÃO ESTUDADA.....	34
6.2	CONCENTRAÇÕES DE CITOCINAS NO SORO.....	37
6.3	CONCENTRAÇÕES DE CITOCINAS NO LÍQUIDO PERITONEAL.....	38
6.4	CONCENTRAÇÕES DE CITOCINAS NO LÍQUIDO INTRACÍSTICO.....	39
6.5	CURVAS ROC.....	39
6.6	CORRELAÇÕES.....	40
7	DISCUSSÃO.....	41
8	CONCLUSÃO.....	49
	REFERÊNCIAS.....	50
	ANEXOS.....	60
	ANEXO A – Parecer consubstanciado do CEP.....	60

1 INTRODUÇÃO

1.1 ENDOMETRIOSE

1.1.1 Definição e diagnóstico

A endometriose é uma doença benigna do aparelho genital feminino que se caracteriza pela presença de tecido endometrial ectópico, podendo se manifestar de maneira difusa em implantes pélvicos e de maneira localizada como no endometrioma ovariano. É uma doença crônica e de difícil diagnóstico, o que leva a considerar a prevalência, e não a incidência, como melhor parâmetro para a análise dos aspectos epidemiológicos (MAO; ANASTASI, 2010). Dados da literatura apontam uma prevalência de 10% em mulheres em idade fértil (VIGANÒ *et al.*, 2004). Endometriomas ovarianos são encontrados em 17 a 44% das pacientes com diagnóstico de endometriose (RUDERMAN; PAVONE, 2017).

O diagnóstico clínico da endometriose é desafiador, uma vez que os sinais e sintomas podem variar consideravelmente (NISENBLAT *et al.*, 2016). A dor pélvica, a dispareunia profunda e a infertilidade estão presentes na clínica da endometriose, assim como de várias outras patologias ginecológicas. Os sintomas da dor nem sempre se correlacionam com a gravidade das lesões. Embora a endometriose profunda esteja associada a uma dor intensa, existem algumas dessas lesões que não causam dor (KONINCKX *et al.*, 2019).

Níveis elevados do Antígeno do Câncer Ovariano 125 (CA-125) geralmente estão aumentados em pacientes com endometriose, mas esse aumento não é específico, pois pode indicar a presença de várias outras patologias ginecológicas, como câncer de ovário ou inflamação (NISENBLAT *et al.*, 2016). No entanto, em mulheres com história de dor pélvica crônica e infertilidade, o nível plasmático de CA 125 maior ou igual a 30 U/ml é presuntivo de endometriose (HIRSCH *et al.*, 2017). Um biomarcador sérico de diagnóstico confiável representaria um grande avanço para o diagnóstico clínico da endometriose (DAWSON *et al.*, 2018).

A ultrassonografia transvaginal tem sido apontada como um exame de imagem com uma boa contribuição ao diagnóstico da endometriose profunda (invasão > 5 mm no peritônio) por ser um exame acessível, de baixo custo e não

invasivo. No entanto, essa avaliação é limitada, pois depende de um profissional hábil para realizá-la e que tenha experiência na execução do exame, pois as lesões podem ser muito pequenas e passar despercebidas (OLIVEIRA *et al.*, 2019). O uso da ultrassonografia transvaginal para o diagnóstico de endometriomas também é limitado tanto por ser operador dependente como também pela heterogeneidade de apresentação dessas lesões à imagem ultrassonográfica, principalmente em mulheres na pós-menopausa. Em regra geral, a imagem de um cisto unilocular com ecogenicidade do vidro fosco é altamente sugestiva de endometrioma, no entanto, em mulheres na pós-menopausa, cerca de 44% dessas imagens correspondem à massa ovariana maligna (VAN HOLSBEKE *et al.*, 2010).

A ressonância magnética é indicada no pré-operatório em casos complexos de endometriose com presença de aderências e comprometimento ureteral. A especificidade desse exame é alta no diagnóstico de endometriomas (CHAMIÉ *et al.*, 2011). Mas ainda é considerado um exame de alto custo, não acessível e examinador dependente para laudar as lesões.

O exame padrão-ouro para o diagnóstico da endometriose é a videolaparoscopia diagnóstica com a análise histológica do tecido biopsiado durante o exame. Durante o procedimento, a biópsia das lesões suspeitas é essencial e a excisão é o tratamento de escolha quando for possível realizá-la com segurança (SCHIPPER; NEZHAT, 2012).

O diagnóstico tardio é um problema significativo para mulheres com endometriose. A cultura de que a dor pélvica é normal em mulheres e a complexidade do diagnóstico ser por um meio invasivo e de alto custo podem atrasar de quatro a dez anos o diagnóstico, desde o relato dos sintomas à confirmação do diagnóstico. Esse atraso pode ter como consequência o avanço da doença, levando a um estágio que é mais difícil de tratar (AGARWAL *et al.*, 2019; NATIONAL GUIDELINE ALLIANCE, 2017).

Enquanto os médicos estão mais familiarizados com as características clínicas da endometriose, as tecnologias moleculares emergentes estão aprimorando a compreensão da doença a fim de melhorar o conhecimento e o seu tratamento (WEI; WILLIAM; BULUN, 2011).

1.1.2 Fisiopatologia da endometriose

A endometriose não tem uma fisiopatologia bem estabelecida. Algumas teorias fundamentam-se no fato de os implantes serem de origem do endométrio uterino e outras teorias no fato de os implantes surgirem a partir de tecidos diferentes do útero.

A teoria celômica baseia-se no fato de as células endometriais e peritoneais possuírem um precursor comum: a célula celômica. Estímulos hormonais e imunológicos induzem o mesotélio peritoneal a sofrer metaplasia, formando glândulas e estroma típicos do tipo endometrial (BONTIS; VAVILIS, 1997).

A teoria da implantação foi proposta por Sampson em 1925 e defende a hipótese de que implantes de endometriose teriam origem de células endometriais que seriam trazidas à cavidade peritoneal por um fluxo menstrual retrógrado por meio das tubas uterinas (SAMPSON, 1925). No entanto, a teoria original não explica o fato de todas as mulheres apresentarem o fluxo menstrual retrógrado e somente algumas apresentarem o diagnóstico de endometriose. Portanto, são necessários outros fatores para justificar a sobrevivência, a invasão e o crescimento dessas células na cavidade peritoneal. Alterações no sistema imune das pacientes que têm o diagnóstico de endometriose vêm sendo apontadas cada vez mais como responsáveis por produzirem um ambiente propício ao desenvolvimento das lesões endometrióticas (IZUMI *et al.*, 2018).

A teoria do tecido remanescente embrionário defende a hipótese de que células de origem Mülleriana desenvolveriam o tecido endometriótico na cavidade peritoneal. Ainda são necessários estudos que comprovem a sobrevivência desse tecido embrionário até a vida adulta. No entanto, essa teoria conseguiria explicar casos de endometriose em pacientes do sexo masculino e em mulheres antes da menarca (LONGO, 1979).

Outra hipótese para explicar a origem dos implantes endometrióticos é a de que células-tronco da camada basal do endométrio e células-tronco derivadas da medula óssea seriam capazes de se fixarem e de se desenvolverem em locais fora do útero. Mais estudos são necessários para se concluir sobre as células-tronco na fisiopatologia da endometriose (SASSON; TAYLOR, 2008).

Na cavidade peritoneal, o tecido endometrial ectópico precisa se fixar, sobreviver diante da defesa do organismo, invadir o peritônio e criar mecanismos que nutrem o seu desenvolvimento. O líquido peritoneal contém várias células do sistema imune, como macrófagos, células *natural killer*, linfócitos, monócitos e

células mesoteliais. Os macrófagos do líquido peritoneal das mulheres com endometriose estão mais ativados, liberando maior quantidade de citocinas, prostaglandinas e componentes do complemento que regulam eventos, os quais podem ter relação com a patogênese da endometriose (GAZVANI; TEMPLETON, 2002).

Wingfield *et al.* (1995) mostraram que a proliferação celular é aumentada no endométrio de mulheres com endometriose, sugerindo que as células endometriais, estromais e epiteliais do endométrio dessas mulheres podem ter uma maior capacidade de implantar e sobreviver em locais ectópicos. As células *natural killer* têm a capacidade de lisar as células-alvo sem a exposição prévia ao antígeno dessa célula. Sabe-se que, em mulheres com o diagnóstico de endometriose, essas células têm sua função diminuída, colaborando para a sobrevivência das células do endométrio na cavidade peritoneal (OOSTERLYNCK *et al.*, 1991; SIKORA; MIELCZAREK-PALACZ; KONDERA-ANASZ, 2011). Os macrófagos estão aumentados no fluido peritoneal de pacientes com endometriose. Essas células produzem citocinas pró-inflamatórias e quimiotáticas (BESTE *et al.*, 2014). Podem exercer um papel fundamental no crescimento de implantes endometrióticos, pois produzem mediadores angiogênicos como o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) e a Interleucina 8 (IL-8) (KOCH *et al.*, 1992).

Sabe-se que algumas citocinas estão aumentadas em pacientes com endometriose. Muitos estudos tentam estabelecer um vínculo entre os níveis de citocinas e a fisiopatologia nesse contexto patológico. Não se sabe se a alteração do ambiente imune é causa ou consequência dos implantes endometrióticos. O interesse científico em desvendar os aspectos imunes da endometriose justifica-se, pois pode ter boas consequências para o diagnóstico e para o tratamento dessa doença (AHN *et al.*, 2015).

Não há um consenso sobre a formação do endometrioma, mas se acredita que seja formado a partir de uma invaginação do foco endometriótico no parênquima ovariano ou do sangramento de um foco dentro de um cisto ovariano prévio ou do próprio parênquima ovariano (BUSACCA; VIGNALI, 2003). Estudos utilizando a ovarioscopia mostram que, na maioria dos casos de endometrioma, o cisto é formado pela invaginação do córtex ovariano e os implantes endometrióticos ativos estão localizados nesse local onde se deu a invaginação (BROSENS; PUTTEMANS; DEPREST, 1994).

1.1.3 Endometriose: classificação

Em 1996, a *American Society for Reproductive Medicine* (ASRM) realizou uma classificação para a endometriose baseada na visualização sistemática da pelve, registrando o número, tamanho e localização de implantes, endometriomas e aderências. Escores entre um e 15 são compatíveis com endometriose mínima ou leve; escores entre 16 e 40, endometriose moderada e acima de 40, endometriose severa. No entanto, novas classificações para a endometriose têm sido propostas, considerando os fenômenos inflamatórios e o potencial de evolução das lesões (JOLINIÈRE *et al.*, 2019).

1.1.4 Endometriose: tratamento

Devido à falta de conclusões sobre a fisiopatologia da doença, a maioria dos tratamentos farmacológicos baseia-se na evidência científica da dependência do estrogênio para o crescimento de tecido endometriótico. O tratamento medicamentoso na endometriose consiste em induzir a supressão de lesões pela supressão da via hipotálamo-hipófise-ovário e, com isso, abolir a ovulação e a menstruação. Essa supressão pode ser feita pelo uso de anticoncepcionais e agonistas do hormônio liberador de gonadotrofina, no entanto, esse último traz efeitos colaterais graves do hipoestrogenismo e ambos apresentam um alto grau de recorrência da doença (RODGERS; FALCONE, 2008).

O tratamento cirúrgico consiste na ablação dos implantes de endometriose e, no caso do endometrioma, na realização de ooforoplastia ou na ablação do cisto endometriótico. A excisão do endometrioma tem melhores resultados no controle da dor e menor recorrência, principalmente nos endometriomas maiores que três centímetros (HART *et al.*, 2008).

Na busca de novas possibilidades terapêuticas, os estudos e pesquisas em torno da imunologia na fisiopatologia da endometriose abrem a hipótese de uma deficiência do sistema imune de mulheres com endometriose em conter o crescimento do tecido endometrial na cavidade pélvica e até mesmo estimular a angiogênese nesse tecido com crescimento anormal (AHN *et al.*, 2015).

1.2 ENDOMETRIOSE E CITOCINAS

As citocinas são proteínas ou glicoproteínas sintetizadas por macrófagos peritoneais, linfócitos, implantes endometriais ectópicos ou células mesoteliais do peritônio. Elas são responsáveis por regular a atividade inflamatória. Várias citocinas estão aumentadas no soro e no líquido peritoneal de mulheres com endometriose e podem ter funções fundamentais no implante e desenvolvimento do endométrio ectópico (PIZZO *et al.*, 2002).

Estudos mostraram níveis séricos significativamente mais elevados de Interleucina 1 (IL-1), Interleucina 4 (IL-4) e Interleucina 10 (IL-10) em mulheres com endometriose em comparação aos controles (MĂLUȚAN *et al.*, 2015). Em outro estudo, a avaliação do plasma de pacientes após a realização de excisão cirúrgica de focos de endometriose detectou uma diminuição significativa nos níveis circulantes de Fator de Estimulação de Colônias de Granulócitos-Macrófagos (GM-CSF), Interleucina 2 (IL-2), IL-8 e IL-10 (MONSANTO *et al.*, 2016).

A Interleucina 6 (IL-6) é uma citocina multifuncional e tem sido demonstrado seu alto nível no líquido peritoneal de mulheres com endometriose. Foi mostrado que, após a cirurgia ou após o uso de agonista do *Gonadotropin-Releasing Hormone* (GnRH) para o tratamento da endometriose, esses níveis decresciam (IWABE *et al.*, 2003). Em pacientes com endometriose, os níveis de IL-6 têm sido avaliados, correlacionando-os com o grau de endometriose, sendo maior a concentração de IL-6 em níveis mais avançados da doença (HARADA *et al.*, 1997). IL-6 é um ativador de macrófagos e promove a proliferação celular de endométrio (GIUDICE, 1994). Células estromais endometrióticas expressam Ácido Ribonucleico Mensageiro (mRNA) de IL-6 e produzem proteína IL-6. Além disso, concentrações aumentadas de IL-6 têm sido notadas na cultura de tecido endometrial ectópico, no sangue periférico e no líquido peritoneal de mulheres com endometriose (TSUDO *et al.*, 2000). Mahnke, Dawood e Huang (2000) mostraram níveis significativamente mais altos de IL-6 em mulheres com endometriose em um grau mais avançado da doença.

A IL-1 é uma citocina de fase aguda da inflamação e seus níveis têm sido demonstrados aumentados em lavado peritoneal de mulheres com endometriose. Vários estudos têm comprovado um microambiente inflamatório por uma resposta

exacerbada dessa interleucina (IL) na tentativa de acabar com o foco endometriótico na cavidade pélvica (KONDERA-ANASZ *et al.*, 2005).

Pacientes com endometriose apresentam níveis elevados da IL-10 no lavado peritoneal e ela estaria relacionada na fisiopatologia da endometriose, facilitando o implante dos focos endometrióticos na pelve (SOMIGLIANA *et al.*, 1996).

A IL-8 é uma potente citocina para a quimiotaxia dos neutrófilos, com efeitos pró-inflamatórios e angiogênicos, estando relacionada com a evolução da doença. Além de estar aumentada no líquido peritoneal de mulheres com endometriose, seus níveis estão diretamente aumentados proporcionalmente aos estágios da doença (AKOUM *et al.*, 2001).

O TNF- α desempenha importante papel na resposta inflamatória e estudos o apontam cada vez mais relacionado à etiopatogenia de doenças. Ele age desencadeando uma série de transdução de sinais, dependendo do tipo de receptor no qual se liga. Os receptores com os quais o Fator de Necrose Tumoral (TNF) interage são o Receptor 1 do Fator de Necrose Tumoral (TNFR1) e o Receptor 2 do Fator de Necrose Tumoral (TNFR2). Ao ligar-se ao TNFR1, pode ser ativada tanto a transdução de proteínas antiapoptóticas como de proteínas que induzem a morte celular. Já o TNFR2 induz somente a transdução de proteínas antiapoptóticas (CABAL-HIERRO; LAZO *et al.*, 2012).

Salmeri *et al.* (2015) avaliaram os níveis de mRNA e de proteínas do mRNA de células mononucleares do líquido peritoneal de 80 pacientes com endometriose e observaram, em seus resultados, que as células dessas pacientes apresentavam mais mRNA e proteínas do mRNA do TNF- α que as das pacientes-controle. Mostraram também que os níveis de mRNA e de proteínas de TNFR1 foram significativamente maiores em pacientes com endometriose, no entanto, esses níveis decresciam com a maior gravidade da doença. Os níveis de mRNA e de proteínas de TNFR2 também se mostraram elevados em relação ao grupo-controle e, diferentemente dos níveis de proteínas TNFR1, esses níveis aumentaram em relação à gravidade da doença. Assim, o TNF- α e seus receptores podem exercer papel importante na endometriose devido à sua capacidade de desencadear o destino celular por meio da regulação da apoptose celular. No entanto, estudos adicionais são necessários para maior elucidação da patogênese na endometriose (SALMERI *et al.*, 2015).

As citocinas têm, dentre suas diversas funções, papéis considerados importantes para a progressão da endometriose, como proliferação e diferenciação celular, produção de enzimas e proteínas da fase aguda da inflamação e indução da angiogênese. Muitos estudos versam sobre a elevação dos níveis de citocinas e sua função na patogênese da doença em pacientes com endometriose (GAZVANI; TEMPLETON, 2002).

As alterações encontradas nas células do sistema imune do microambiente peritoneal de pacientes com endometriose mostram que essas alterações constatadas formam um ambiente permissivo para a sobrevivência e proliferação do endométrio ectópico que chegou à cavidade peritoneal por meio do fluxo retrógrado.

1.3 ENDOMETRIOSE E CÂNCER DE OVÁRIO

Apesar de a endometriose ser considerada uma condição benigna devido à sua histologia normal, dados moleculares demonstram fortemente que a endometriose tem características neoplásicas. Semelhante ao câncer, o tecido endometrial ectópico pode resultar em disseminação do tecido, invasão e dano ao órgão, bem como em neoangiogênese (SIUFI NETO *et al.*, 2014).

Shih e Kurman (2004) propuseram uma nova classificação das neoplasias epiteliais de ovário em dois grupos com características moleculares distintas. Os tumores tipo II são agressivos, geralmente se apresentam em estádios mais avançados, são geneticamente instáveis e a mutação da Proteína Citoplasmática 53 (p53) é mais frequente e é representada pelo carcinoma seroso de alto grau. Os tumores do tipo I progridem mais lentamente, são histologicamente diferenciados, têm uma maior estabilidade genômica e estão associados a lesões precursoras clinicamente identificáveis como a endometriose. Dentre as neoplasias desse grupo, estão o câncer seroso de baixo grau, o câncer de ovário mucinoso e endometriode, carcinomas de células claras e o câncer de células de transição (SHIH; KURMAN, 2004).

A endometriose tem a sua relação como fator de risco mais estabelecida com os carcinomas de células claras e com os carcinomas endometrioides, mas Pearce *et al.* (2012) estabeleceram também um risco maior de carcinoma seroso de baixo grau nessa morbidade.

Acredita-se que vários cânceres ginecológicos específicos sejam originários da endometriose. Sampson (1925) publicou, pela primeira vez, um relato de uma malignidade associada à endometriose na qual descreveu critérios específicos para cânceres ovarianos associados à endometriose

O risco de pacientes com histórico de endometriose terem um diagnóstico de tumor invasivo de células claras e endometriode foi três vezes maior que nas mulheres saudáveis (DAWSON *et al.*, 2018). Esse risco foi menor entre as mulheres que foram submetidas a tratamento cirúrgico do endometrioma (ROSSING *et al.*, 2008).

Em um estudo retrospectivo em que foram avaliadas mais de 200 mil pacientes internadas com diagnóstico de endometriose, entre 2000 e 2013, Chiang *et al.* (2018) associaram outros fatores ligados à endometriose que aumentariam a chance de a paciente desenvolver o câncer de ovário: a idade avançada; estar residente em áreas altamente urbanizadas; depressão; doença inflamatória pélvica e ausência de gestação após o diagnóstico de endometriose. Esses dados podem contribuir para identificar pacientes com endometriose de alto risco para o desenvolvimento de neoplasia de ovário (CHIANG *et al.*, 2018).

Em uma análise do prognóstico de pacientes com tumores de ovário associados à endometriose, foi demonstrada uma taxa de sobrevivência muito melhor nessas pacientes em relação às pacientes com carcinoma de ovário sem qualquer relação com a endometriose (KUMAR *et al.*, 2011). Essa relação pode ser explicada, pois o diagnóstico de pacientes com câncer decorrente da endometriose são mais jovens e tinham doença em estágio inicial e de baixo grau em comparação com aquelas sem endometriose. Isso pode estar relacionado à tendência de melhores resultados de sobrevida (PAIK *et al.*, 2017).

Apesar da frequente associação dos tumores ovarianos com a endometriose, são necessários mais estudos acerca da fisiopatologia em comum dessas doenças. Foi demonstrado, recentemente, que tanto o carcinoma de células claras do ovário como a endometriose atípica apresentavam mutações no gene ARID1A. Outras alterações que relacionam as duas doenças foram a regulação positiva de Fator Nuclear de Hepatócito (HNF-1b), a perda de expressão de receptores de estrogênios e os receptores de progesterona (XIAO; AWADALLAH; XIN, 2012).

Mutações de ARID1A foram encontradas em 41-57% de carcinoma de células claras de ovário, em 30-48% de carcinoma endometriode de ovário,

aproximadamente 40% na endometriose contígua e em 15-20% dos pacientes com cisto ovariano tipo endometrioma (CHENE *et al.*, 2015).

Uma outra hipótese que justificaria as mutações gênicas seria o estresse oxidativo pelo ferro produzido nas lesões endometrióticas quando ocorrem os sangramentos (KAJIHARA *et al.*, 2012).

Alguns estudos pontuam a existência de alguma relação da endometriose com outras neoplasias. Saavalainen *et al.* (2018) observaram, em um estudo de coorte no qual foram avaliadas 49933 mulheres com o diagnóstico cirúrgico de endometriose, o aumento de câncer de tireoide e carcinoma basocelular nessas pacientes

Outros trabalhos mostram a conexão entre endometriose e câncer de mama. Um levantamento de estudos epidemiológicos sobre essa relação mostrou tanto estudos aprovando um aumento de câncer de mama em mulheres com endometriose como estudos que apontaram uma relação contrária entre essas morbidades (PONTIKAKI; SIFAKIS; SPANDIDOS, 2016).

Há várias evidências de que a endometriose tem relação com o câncer de ovário epitelial, especialmente adenocarcinomas de células claras e endometrioides. No entanto, há a necessidade de mais estudos para elucidar se a relação entre endometriose e câncer de ovário é de causalidade ou de compartilhamento de fatores de risco e mecanismos antecedentes semelhantes (MUNKSGAARD; BLAAKAER, 2011).

2 JUSTIFICATIVA

A endometriose, incluindo o endometrioma de ovário, é uma doença cada vez mais diagnosticada na busca da causa da dor pélvica e da infertilidade. O diagnóstico é de difícil acesso, uma vez que ainda não se dispõe de métodos não invasivos eficazes, sendo o padrão-ouro a laparoscopia diagnóstica com estudo histopatológico. Após a suspeita de endometrioma ovariano pela imagem, a paciente é submetida à cirurgia para diagnóstico definitivo e tratamento, sendo que, frequentemente, o seguimento é precário e, muitas vezes, inexistente. Alguns estudos têm mostrado uma relação da endometriose com o câncer de ovário. Na tentativa de demonstrar parte dessa relação, este estudo visa a analisar a relação existente entre endometriomas e neoplasias ovarianos pelo perfil imunológico dessas morbidades. A análise da relação dessas IL entre os grupos do estudo ajuda na compreensão da endometriose como fator de risco para o câncer de ovário e a necessidade de seguimento mais rigoroso das pacientes com diagnóstico de endometriomas.

3 HIPÓTESE

Os valores séricos, intracísticos e do líquido peritoneal de algumas citocinas são mais elevados em endometriomas e neoplasias malignas comparados com neoplasias benignas e lesões não neoplásicas de ovário;

Há correlação positiva dos valores das concentrações séricas, intracísticas e do líquido peritoneal de algumas citocinas entre endometriomas e neoplasias malignas de ovário.

4 OBJETIVOS

- a) Avaliar as dosagens de IL-2, Interleucina 5 (IL-5), IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- α no soro, líquido intracístico e líquido peritoneal de pacientes com diagnóstico de endometrioma ovariano, neoplasias malignas e benignas de ovário e lesões não neoplásicas de ovário;
- b) Verificar se há correlação entre os valores dessas citocinas entre os grupos de pacientes com endometrioma de ovário e de pacientes com diagnóstico confirmado de neoplasia maligna ovariana nos diferentes ambientes estudados (soro, líquido intracístico e lavado peritoneal);
- c) Determinar o melhor ponto de corte das IL séricas que poderá ser utilizado na diferenciação de pacientes com neoplasia maligna de ovário e endometrioma.

5 METODOLOGIA

5.1 MODELO DE ESTUDO

Estudo de coorte prospectivo

5.2 PACIENTES

Selecionou-se a amostra deste estudo dentre as pacientes atendidas no Ambulatório de Massa Pélvica do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia/Instituto de Pesquisa em Oncologia (IPON) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), no período de 2009 a 2018, e que tiveram indicação de tratamento cirúrgico. Os critérios para a indicação de laparotomia exploradora para avaliação da massa pélvica foram: cistos anecóicos com diâmetro menor que sete centímetros e com persistência por mais de seis meses; cistos anecóicos com diâmetro maior ou igual a sete centímetros; massas pélvicas com conteúdo sólido; vegetações intracísticas; septos grossos; dois ou mais septos finos; presença de ascite; massas pélvicas bilaterais; marcadores tumorais alterados e massas pélvicas com uma vascularização ao *collor doppler* mostrando um índice de resistência $< 0,4$ (MURTA *et al.*, 2004a; MURTA *et al.*, 2004b, MURTA; NOMELINI, 2006).

O consentimento foi obtido de cada paciente incluída no estudo. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFTM sob o CAAE 34770014.4.0000.5154 (ANEXO A).

Foram revisados os resultados anatomopatológicos em parafina, sendo, então, incluídas no estudo as pacientes com diagnóstico confirmado de tumor não neoplásico de ovário (n=20), endometriomas (n=21), neoplasia benigna de ovário (n=82) e neoplasia maligna de ovário (n=30).

O critério de inclusão foi diagnóstico de lesão não neoplásica de ovário, endometrioma e neoplasia benigna ou maligna primária de ovário. Os critérios de exclusão foram torção do pedículo anexial, neoplasia maligna secundária de ovário (metástase), tratamento prévio, uso de medicações imunossupressoras e recidiva.

Os seguintes dados dos prontuários foram anotados em banco de dados

específico para o estudo: idade; paridade; idade de menarca e menopausa e marcadores tumorais.

5.3 COLETA DE SANGUE

A coleta do sangue foi realizada no pré-operatório, assim que a paciente foi internada para a realização da cirurgia. O sangue coletado foi centrifugado e o soro foi estocado (- 20°C) até o experimento para a dosagem de citocinas. Para a avaliação sérica, foram utilizados: endometriomas (n=20); lesões não neoplásicas (n=19); neoplasias benignas de ovário (n=79) e neoplasias malignas de ovário (n=30).

5.4 COLETA DO LÍQUIDO PERITONEAL E DO LÍQUIDO INTRACÍSTICO

Em todas as cirurgias por tumores ovarianos, foi coletado o líquido peritoneal por meio do lavado peritoneal, exceto quando havia ascite. Nesse caso, foi realizada a coleta direta da ascite. Para o lavado peritoneal, foram injetados 100 ml de soro fisiológico 0,9% na cavidade peritoneal e coletados 20 ml do líquido. Todos os tumores ovarianos das pacientes submetidas à laparotomia exploradora com massa ovariana cística, ou sólida com áreas císticas, foram submetidos à punção, imediatamente após a exérese do cisto, para a obtenção de no máximo 20 ml do conteúdo intracístico para a avaliação do microambiente tumoral. Foram utilizadas seringas de 20 ml e agulhas 18G x 11,2; 1,2 x 40 estéreis, e o líquido foi coletado por aspiração lenta. Os líquidos peritoneais e intracísticos foram colocados em frascos estéreis em caixa de isopor com gelo para o transporte até o laboratório da Disciplina de Farmacologia. O líquido peritoneal e o líquido intracístico ovariano foram, a seguir, centrifugados (1500 rpm, 10 minutos) e o sobrenadante coletado foi estocado (- 20°C) até o experimento para a dosagem de citocinas. Para a avaliação do líquido intracístico, foram utilizados: endometriomas (n=15); lesões não neoplásicas (n=16); neoplasias benignas de ovário (n=72) e neoplasias malignas de ovário (n=23). Não foi realizada a coleta de líquidos intracísticos nos tumores sólidos. Para a avaliação do líquido peritoneal, foram utilizados: endometriomas

(n=18), lesões não neoplásicas (n=14), neoplasias benignas de ovário (n=76) e neoplasias malignas de ovário (n=29).

5.5 ESTUDO ANATOMOPATOLÓGICO

Foi realizado pelo Serviço de Patologia Cirúrgica da UFTM nos cortes embebidos em parafina, sendo que os casos foram revisados por um médico patologista da disciplina de Patologia Especial.

5.6 ELISA

As concentrações de IL-2, IL-8, TNF- α , IL-5, IL-6 e IL-10 foram quantificadas nas amostras de soro por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA). Para a captura de anticorpos, placas de 96 poços foram revestidas com 50 μ L/poço do anticorpo específico para cada uma das citocinas acima, diluídos (1 a 3 μ g/ μ L) em solução tampão de ligação (Na_2HPO_4) e incubados por 16-24 h em temperatura de 4°C. As placas foram então lavadas (PBS/Tween 20 a 0,05%) três vezes e a ligação não específica foi bloqueada (2h, 37°C) com PBS/BSA 1% (100 μ L/poço) e incubadas por 16-24 h a 4°C. Para a curva padrão foram utilizados anticorpos recombinantes humanos previamente diluídos em PBS/Tween 20 (2,5 a 10 mg/ml). 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 h de incubação (37°C), as placas foram lavadas (PBS/Tween 20) e o conjugado avidina-peroxidase, previamente diluído em tampão de bloqueio (1:5000), foi adicionado (100 μ L/poço). A placa foi novamente incubada por 30 minutos a temperatura ambiente. Após esse período de tempo as placas foram lavadas e, em seguida, foi realizada a reação de coloração adicionando-se o substrato o-fenilenediamina dihidroclorato- OPD (100 μ L). As placas foram então incubadas em temperatura ambiente por 15 a 20 minutos. A reação foi interrompida com H_2SO_4 (50 μ L, 1M) e a absorbância medida a 490 nm em leitor de placa de ELISA. Os resultados foram expressos em pictogramas de cada citocina por mililitro de soro ou sobrenadante.

5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados pelo *software GraphPad Prism 6 e MedCalc 19.0.4*. De acordo com a distribuição (teste D'Agostino & Pearson), os resultados com distribuições não normais foram expressos em medianas (valores mínimo e máximo). Os resultados das concentrações das citocinas IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 no soro, líquido peritoneal e líquido intracístico entre os grupos não pareados (lesões não neoplásicas de ovário, neoplasias benignas, neoplasias malignas e endometriomas) foram analisados pelo teste de *Kruskal-Wallis*, com o pós-teste de *Dunn*. Para citocinas que apresentaram significância estatística, foi utilizada uma curva *Receiver Operating Feature (ROC)* para obter a Área Sob a Curva (AUC) e determinar os melhores valores de corte que poderiam ser utilizados no diagnóstico de neoplasia maligna de ovário. As correlações das concentrações das citocinas no soro, lavado peritoneal e líquido intracístico entre pacientes com neoplasia maligna de ovário e pacientes com endometriose foram realizadas pelo teste *Spearman*. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0.05$.

6 RESULTADOS

6.1 POPULAÇÃO ESTUDADA

Este estudo envolveu 153 pacientes: 20 (13,1%) foram diagnosticadas com lesões ovarianas não neoplásicas; 82 (53,6%), com neoplasia benigna; 30 (19,6%), com neoplasia maligna e 21 (13,7%), com endometrioma.

A mediana da idade das pacientes do grupo não neoplásico foi de 46,5 anos (20-87 anos); das pacientes com endometrioma, 42 anos (20-61 anos); as com neoplasia benigna apresentaram idade mediana de 50,5 anos (11-77 anos), enquanto pacientes com neoplasia maligna apresentaram idade mediana de 55 anos (14-82 anos) (TABELA 1).

Quanto aos marcadores tumorais, o valor da mediana dos níveis séricos de CA-125 (2,120-727,40 U/ml) das pacientes do grupo não neoplásico foi de 17,10 U/ml (3,0-53,9 U/ml); das pacientes com endometrioma, de 56,8 U/ml (11,2-338,7 U/ml); com neoplasia benigna, de 16,9 U/ml (2,5-395,9 U/ml), enquanto pacientes com neoplasia maligna foi de 28,9 U/ml (2,1-3961,0 U/ml). O valor da mediana dos níveis séricos de Antígeno do Câncer Ovariano 19.9 (CA-19.9) das pacientes do grupo não neoplásico foi de 7,9 U/ml (0,5-45,1 U/ml); das pacientes com endometrioma, de 19,4 U/ml (0,9-122,9 U/ml); com neoplasia benigna, de 10,8 U/ml (0,6-327,1 U/ml) e das pacientes com neoplasia maligna, de 10,9 U/ml (0,8-706,1 U/ml). Por fim, o valor da mediana dos níveis séricos de Antígeno do Câncer Ovariano 15.3 (CA-15.3) (6,25-202,10 U/ml) das pacientes do grupo não neoplásico foi de 17,6 U/ml (6,5-26,1 U/ml); das pacientes com endometrioma, de 15,7 U/ml (9,7-39,5 U/ml); com neoplasia benigna, de 14,7 U/ml (6,3-37,3 U/ml), enquanto pacientes com neoplasia maligna, de 17,3 U/ml (9,3-202,1 U/ml) (TABELA 1).

A análise anatomopatológica mostrou que os casos de lesões ovarianas não neoplásicas eram: 11 cistos funcionais (55%); um cisto de inclusão (5%); um cisto seroso (4,8%) e oito cistos simples (38,2%). As lesões neoplásicas benignas foram: 31 cistadenomas serosos (37,8%); 23 teratomas maduros (28%); cinco fibromas (6,1%); um leiomioma ovariano (1,2%); um fibrotecoma (1,2%) e 22 cistadenomas mucinosos (26,8%). Nas pacientes com neoplasia maligna, foram: seis cistadenocarcinomas serosos (20%); cinco tumores de células da granulosa (16,7%); seis tumores mucinosos limítrofes (20%); dois tumores serosos limítrofes (6,7%);

dois disgerminomas (6,7%); dois carcinomas de células claras (6,7%); um carcinoma endometriode (3,3%); um tumor do seio endodérmico (3,3%); um teratoma imaturo (3,3%); um tumor de Sertoli-Leydig (3,3%); uma neoplasia de alto grau (3,3%), um adenocarcinoma de grandes células (3,3%) e um tumor de células germinativas (3,3%).

Tabela 1. Variáveis quantitativas expressas em mediana (mínimo-máximo) das pacientes do estudo atendidas no Hospital das Clínicas da UFTM. Uberaba-MG. Período de 2009 a 2018.

	Lesões não neoplásicas (n = 20)	Neoplasia Benigna (n = 82)	Neoplasia Maligna (n = 30)	Endometriomas (n = 21)
Idade (anos)	46,5 (20-87)	50,5 (11-77)	55 (14-82)	42 (20-61)
Gestação (n)	3 (0-7)	2 (0-16)	2 (0-11)	2 (0-11)
Paridade (n)	2 (0-5)	2 (0-13)	2 (0-11)	2 (0-9)
Idade menarca (anos)	13 (11-15)	13 (9-18)	13 (9-18)	13 (9-15)
Idade menopausa (anos)	47 (36-53)	49 (32-55)	49 (32-60)	47 (37-50)
Níveis de CA 125 (UI/ml)	17,1 (3,0-53,9)	16,9 (2,5-395,9)	28,9 (2,1-3961,0)	56,8 (11,2-338,7)
Níveis de CA 19,9 (UI/ml)	7,9 (0,5-45,1)	10,8 (0,6-327,1)	10,9 (0,8-706,1)	19,4 (0,9- 122,9)
Níveis de CA 15,3 (UI/ml)	17,6 (6,5-26,1)	14,7 (6,3-37,3)	17,3 (9,3-202,1)	15,7 (9,7-39,5)

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Na Tabela 2 os resultados das concentrações de IL-2, IL-8, TNF- α , IL-5, IL-6 e IL-10 quantificadas nas amostras de soro, líquido intracístico e líquido peritoneal por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA) nas lesões não neoplásicas de ovário, neoplasias benignas de ovário, neoplasias malignas de ovário e endometriomas.

Tabela 2: Concentração de citocinas no soro, no líquido peritoneal e no líquido intracístico nas lesões não neoplásicas de ovário, neoplasias benignas de ovário, neoplasias malignas de ovário e endometriomas.

	IL-2	IL-5	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- α
<i>Soro</i>						
Lesões não neoplásicas de ovário (n=19)	10,3 (4,0-89,7)	8,6 (1,3-30,2)	6,5 (2,5-208,1)	30,4 (16,5-99,0)	10,6 (2,3-49,9)	5,1 (0,3-101,2)
Neoplasias benignas (n=79)	16,3 (0,0-330,1)	8,6 (0,0-92,0)	6,6 (0,1-979,5)	47,6 (3,9-745,3)	11,8 (1,2-123,4)	8,8 (0,0-212,7)
Neoplasias malignas (n=30)	10,7 (0,0-59,9)	9,6 (0,0-41,1)	20,3 (1,2-1241,0)^{ab}	100,4 (12,4-1123,0)^{cde}	17,3 (2,0-241,3)^f	6,9 (0,2-126,2)
Endometriomas (n=20)	7,0 (0,0-176,4)	7,1 (0,0-20,0)	4,2 (1,1-447,5)	33,9 (1,2-870,2)	7,1 (2,7-247,8)	5,3 (0,0-21,0)
<i>Líquido Peritoneal</i>						
Lesões não neoplásicas de ovário (n=14)	11,9 (0,0-246,6)	9,6 (2,4-86,1)	6,8 (0,8-54,2)	45,7 (6,7-180,1)	14,4 (3,1-298,4)	8,3 (1,9-15,2)
Neoplasias benignas (n=76)	13,1 (0,0-399,1)	11,3 (0,0-471,0)	9,3 (2,4-2319,0)	33,8 (0,9-419,5)	18,1 (0,0-457,9)	8,7 (0,0-102,8)
Neoplasias malignas (n=29)	10,8 (0,0-251,1)	11,0 (0,0-95,1)	34,3 (4,5-2251,0)^g	48,7 (4,1-986,5)	23,5 (1,3-613,9)	8,6 (3,2-13,6)
Endometriomas (n=18)	16,2 (0,0-206,6)	8,0 (0,7-100,6)	12,9 (2,5-1344,0)	16,5 (1,2-261,8)	27,5 (3,0-137,6)	8,2 (0,0-36,6)
<i>Líquido Intracístico</i>						
Lesões não neoplásicas de ovário (n=16)	10,5 (7,2-24,2)	8,9 (2,3-145,6)	334,7 (5,9-2293,0)	103,2 (23,1-368,1)	34,4 (10,6-262,9)	8,2 (2,7-14,3)
Neoplasias benignas (n=72)	12,3 (0,0-312,6)	12,3 (0,0-163,2)	46,1 (0,3-2317,0)	130,2 (0,4-441,5)	22,8 (0,0-1285,0)	9,4 (0,0-56,7)
Neoplasias malignas (n=23)	12,1 (0,1-90,0)	12,3 (0,1-98,9)	373,7 (6,6-13222,0)^h	167,4 (45,8-2127,0)	49,0 (3,6-511,2)	8,8 (4,6-17,6)
Endometriomas (n=15)	8,9 (1,2-97,2)	19,2 (5,3-143,2)	131,1 (2,3-2455,0)	131,1 (2,3-2455,0)	15,7 (2,4-1445,0)	9,0 (2,7-29,0)

Os valores dos níveis de citocinas no soro, líquido peritoneal e líquido intracístico foram expressos em mediana (valores mínimo e máximo). Teste de Kruskal-Wallis + Pós teste de Dunn. ^a $p \leq 0,05$ para comparar neoplasias benignas; ^b $p \leq 0,01$ para comparar endometriomas; ^c $p \leq 0,05$ para comparar endometriomas; ^d $p \leq 0,05$ para comparar neoplasias benignas; ^e $p \leq 0,001$ para comparar lesões não neoplásicas; ^f $p \leq 0,01$ para comparar endometriomas; ^g $p \leq 0,05$ para comparar lesões não neoplásicas; ^h $p \leq 0,001$ para comparar neoplasias benignas.

Fonte: Elaborado pela autora (2019).

6.2 CONCENTRAÇÕES DE CITOCINAS NO SORO

Para investigar os níveis sistêmicos de citocinas, foram obtidas amostras de soro de pacientes com lesões ovarianas não neoplásicas, neoplasia benigna e maligna, assim como de pacientes com endometrioma.

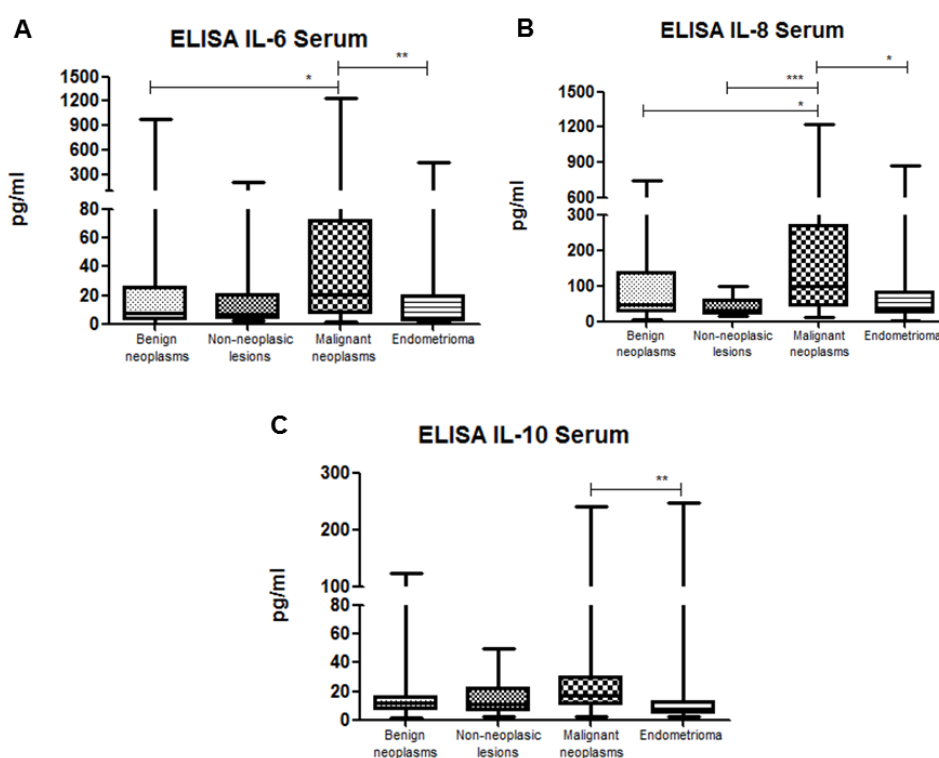
As concentrações séricas de IL-6 foram maiores em pacientes com neoplasia maligna em comparação às pacientes com neoplasia benigna ($p \leq 0.05$) e endometrioma ($p \leq 0.01$) (FIGURA 1A).

Observou-se, ao analisar as concentrações séricas de IL-8, que elas foram maiores nas neoplasias malignas que nos endometriomas ($p \leq 0.05$), nas neoplasias benignas ($p \leq 0.05$) e nas lesões não neoplásicas de ovário ($p \leq 0.0001$) (FIGURA 1B).

IL-10 apresentou concentração sérica aumentada em neoplasias malignas em relação aos endometriomas ($p \leq 0.01$) (FIGURA 1C).

Para as demais citocinas estudadas, não houve diferença estatística nas comparações entre os grupos avaliados.

Figura 1. Relação das concentrações séricas de IL-6 (A), IL-8 (B) e IL-10 (C) (mediana, percentis 25 e 75) pelo método ELISA em pacientes com diagnóstico de neoplasias benignas, lesões não neoplásicas de ovário, neoplasias malignas de ovário e endometriomas. Teste de Kruskal-Wallis, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

6.3 CONCENTRAÇÕES DE CITOCINAS NO LÍQUIDO PERITONEAL

Para investigar os níveis de citocinas no líquido peritoneal, foram obtidas amostras de 20 ml de líquido peritoneal de pacientes com lesões ovarianas não neoplásicas, neoplasia benigna e maligna, assim como de pacientes com endometrioma.

As concentrações de IL-6 no líquido peritoneal foram maiores em pacientes com neoplasia maligna em comparação às pacientes com lesões não neoplásicas de ovário ($p \leq 0.05$) (FIGURA 2B).

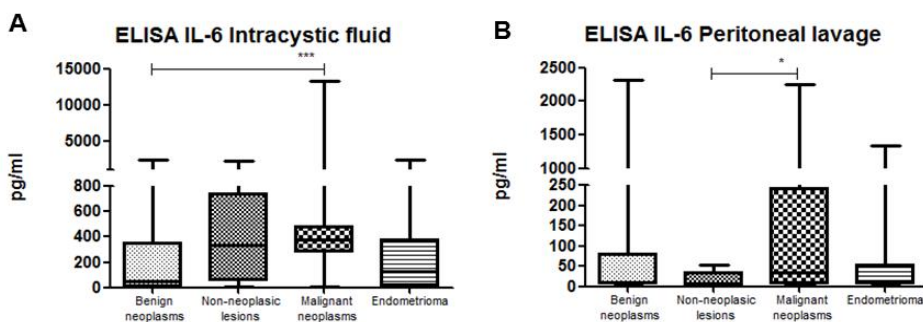
Para as demais citocinas estudadas, não houve diferença estatística nas comparações entre os grupos avaliados.

6.4 CONCENTRAÇÕES DE CITOCINAS NO LÍQUIDO INTRACÍSTICO

Para investigar os níveis de citocinas no líquido intracístico, foram obtidos aspirados de 20 ml do conteúdo intracístico de lesões ovarianas não neoplásicas, neoplasia benigna e maligna, assim como de pacientes com endometrioma.

As concentrações de IL-6 no líquido intracístico foram maiores em pacientes com diagnóstico de neoplasia maligna de ovário em comparação às pacientes com neoplasias benignas de ovário ($p \leq 0.001$) (FIGURA 2A).

Figura 2. Relação das concentrações de IL-6 no líquido intracístico (A) e no lavado peritoneal (B) (mediana, percentis 25 e 75) em pacientes com diagnóstico de neoplasias benignas, lesões não neoplásicas de ovário, neoplasias benignas e neoplasias malignas de ovário. Teste de Kruskal-Wallis, * $p \leq 0,05$, *** $p \leq 0,001$.



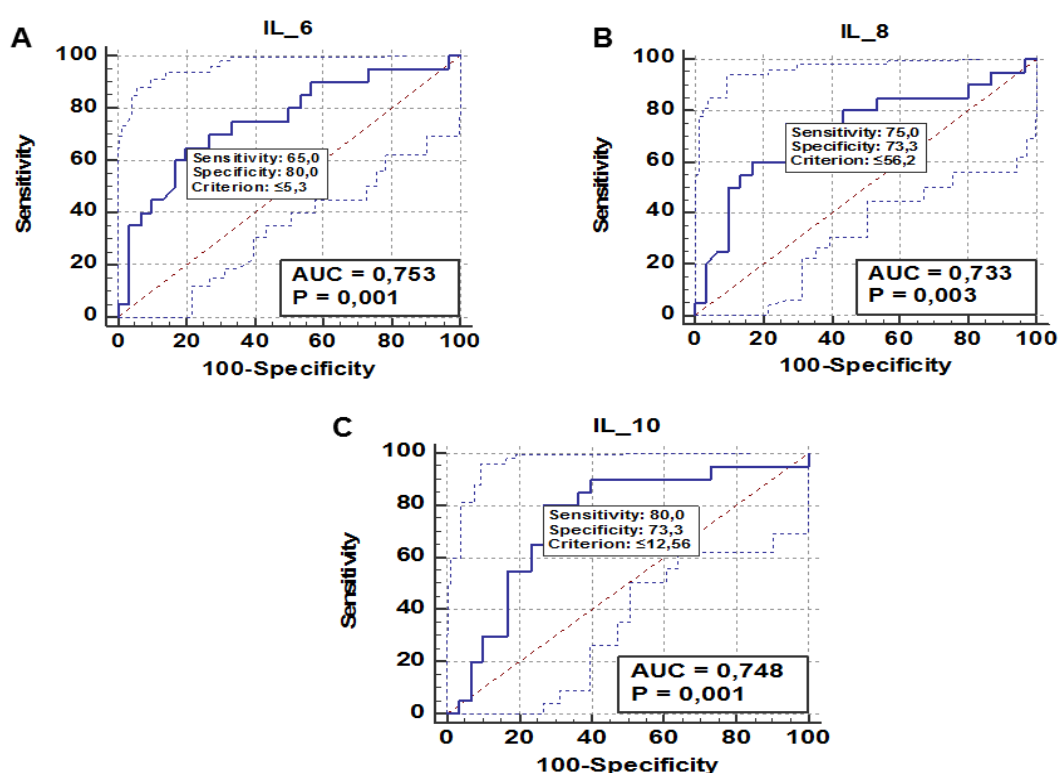
Fonte: Elaborado pela autora (2019).

6.5 CURVAS ROC

As curvas ROC foram utilizadas para obter a AUC e determinar os melhores valores de corte para IL-6, IL-8 e IL-10 que poderiam ser utilizados no diagnóstico de neoplasia maligna de ovário. Foram realizadas curvas comparando pacientes com neoplasia maligna e endometriomas.

Na avaliação dos níveis séricos de citocinas, comparando pacientes com neoplasia maligna e endometriomas, houve significância estatística para IL-6 ($p=0.001$, $AUC=0.753$), IL-8 ($p=0.003$, $AUC = 0.733$) e IL-10 ($p=0.001$, $AUC=0.748$). Os valores de corte para essas citocinas foram 5,3, 56,2 e 12,56, respectivamente (FIGURA 3).

Figura 3. Curva ROC de IL-6, IL-8 e IL-10 séricas de pacientes com diagnóstico de endometrioma e neoplasia maligna de ovário.



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

6.6 CORRELAÇÕES

A avaliação da quantificação de citocinas pelo método de ELISA das pacientes com neoplasia maligna de ovário com pacientes com endometrioma mostrou correlação positiva de IL-5 ($r=0.47$ e $p=0.03$) no soro e correlação positiva de IL-10 ($r=0.68$ e $p=0.0016$) no líquido peritoneal. Para as demais citocinas, não houve significância estatística nesta análise.

7 DISCUSSÃO

A relação entre neoplasias ovarianas e os endometriomas vem sendo cada vez mais discutida e estudada no meio científico. A existência de semelhanças no comportamento imunológico dessas morbidades cria hipóteses de uma relação fisiopatológica entre elas. Estudos apontam a endometriose como lesão precursora do câncer epitelial de ovário. O carcinoma de células claras e o carcinoma endometriode são tumores ovarianos que têm, como fator de risco, a endometriose (PEARCE *et al.*, 2012). A avaliação rigorosa e o seguimento das pacientes com lesões pré-malignas como a endometriose, incluindo os endometriomas, são uma forma de rastreamento e tratamento desses tumores epiteliais em suas fases iniciais (NEZHAT *et al.*, 2015).

Este estudo propôs-se a realizar a comparação e relacionar os níveis de interleucinas IL-2, IL-8, TNF- α , IL-5, IL-6 e IL-10 no soro, líquido peritoneal e líquido intracístico de pacientes com endometriomas, neoplasias malignas e benignas de ovário e lesões não neoplásicas de ovário. Níveis séricos elevados de várias citocinas foram relatados no câncer de ovário.

A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória e está relacionada ao desenvolvimento e à progressão do câncer ovariano epitelial (MACCIÒ; MADEDDU, 2012). A sua concentração está aumentada no microambiente do câncer de ovário e está comprovado seu papel na angiogênese e no potencial metastático desse tumor. (BROWNING *et al.*, 2018; NILSSON; LANGLEY; FIDLER, 2005).

Os níveis plasmáticos de IL-6 estão aumentados em pacientes com endometriose (MIHALYI *et al.*, 2010). O tratamento cirúrgico ou com agonistas de GnRH de pacientes com endometrioma evolui com queda da concentração de IL-6 sérico (IWABE *et al.*, 2003). Em nosso estudo, mostrou-se um aumento dos níveis de IL-6 plasmático em pacientes com diagnóstico de neoplasia maligna de ovário em relação às pacientes com diagnóstico de endometrioma. Foi observado também aumento dos níveis de IL-6 plasmático em pacientes com diagnóstico de neoplasia maligna de ovário em relação às pacientes com diagnóstico de neoplasia benigna de ovário. Por meio da análise da curva ROC, avaliando os níveis séricos de IL-6 nos endometriomas e nas neoplasias malignas de ovário, observou-se, para o ponto de corte de 5,3, que a dosagem sérica dessa IL teria uma sensibilidade de 65% e uma

especificidade de 80% para diferenciar essas duas morbidades ($p=0.003$, $AUC=0,753$).

A IL-10 é uma citocina pleiotrópica com um papel importante na imunorregulação. Tem sido cada vez mais estudado seu pleomorfismo gênico, que influencia a sua expressão e o seu comportamento variado em diferentes doenças. Seja na repetição de dinucleotídeos, seja no polimorfismo de nucleotídeo único, o desafio da ciência é associar esses polimorfismos gênicos da IL-10 à fisiopatologia das doenças (TRIFUNOVIĆ *et al.*, 2015).

Foi avaliada a expressão de IL-10 por meio de imunohistoquímica em tecido de carcinoma ovariano, comparando-a com a mesma avaliação de tecidos de neoplasia benignas de ovário e tecido ovariano normal (controle). A expressão tecidual de IL-10 no carcinoma ovariano foi significativamente maior do que no tumor ovariano benigno e nos controles. O nível sérico dessa IL também foi avaliado nesse mesmo estudo e mostrou-se aumentado nas neoplasias malignas de ovário em comparação às neoplasias ovarianas benignas e o controle (ZHOU *et al.*, 2007).

Em um estudo avaliando pacientes com cistos ovarianos benignos, endometriomas e neoplasias malignas de ovário, os níveis séricos de IL-10 foram significativamente mais altos em pacientes com câncer de ovário em relação aos outros grupos do estudo (SIPAK-SZMIGIEL *et al.*, 2017). Os níveis séricos mais altos de IL-10 em pacientes com neoplasia maligna de ovário evidenciaram-se como um preditor independente de sobrevida, relacionando-se a um pior prognóstico da doença (ZHU *et al.*, 2010).

Em um estudo clínico controlado, Antsiferova *et al.* (2005) conseguiram mostrar que tanto a expressão do mRNA quanto a síntese intracelular de IL-10 aumentaram acentuadamente nos linfócitos periféricos de pacientes com endometriose. Nesse mesmo estudo, foi verificado um aumento de IL-4 tanto no sangue periférico quanto no tecido endometrial ectópico dessas pacientes. A IL-4 e a IL 10 são citocinas do tipo T-helper 2 (Th2), sendo possível associar o desenvolvimento da endometriose à ativação de uma resposta imune do tipo Th2 nos níveis sistêmico e local (ANTSIFEROVA *et al.*, 2005).

O nível sérico de IL-10 também foi significativamente maior em mulheres com diagnóstico de endometriose em relação ao grupo-controle (MĂLUȚAN *et al.*, 2015).

No presente estudo, os níveis séricos de IL-10 foram maiores no grupo de pacientes com diagnóstico de neoplasia maligna de ovário em relação aos

endometriomas. Não houve resultados com significância estatística em relação aos grupos de pacientes com neoplasias benignas e lesões não neoplásicas de ovário. O gráfico ROC mostrou capacidade na concentração sérica de IL-10 em diferenciar neoplasia maligna de ovário de endometrioma para um valor de corte de 12,56 pg/ml com uma sensibilidade de 80% e especificidade de 73,3% (AUC: 0,74 $p=0.001$).

A IL-5 é uma citocina Th2 produzida principalmente por linfócitos e, em menor grau, por mastócitos, células linfoides inatas e eosinófilos. Essa citocina estimula a produção de anticorpos por células B ativadas e é fator importante na diferenciação e proliferação de eosinófilos (TAKATSU, 2011).

Zhu *et al.* (2010) mostraram que os níveis séricos de IL-5 foram maiores em pacientes com câncer de ovário seroso avançado do que em pacientes saudáveis. Há poucas conclusões na literatura sobre o papel da IL-5 na fisiopatologia das neoplasias ovarianas. Em uma avaliação imunohistoquímica de tecidos de endometriose, observou-se um aumento da expressão de eosinófilo peroxidase (produto de degranulação dos eosinófilos) e de IL-5 em relação à avaliação de tecido endometrial eutópico (BLUMENTHAL *et al.*, 2000). A nossa avaliação sérica de IL-5 mostrou a correlação dos valores dessa citocina nas pacientes com diagnóstico de endometriose ovariana e nas neoplasias malignas.

A IL-8 é uma quimiocina pró-inflamatória que tem a função de um quimioatraente e ativador de neutrófilos na resposta imune. Também acentua a angiogênese e influencia o crescimento celular e o desenvolvimento do tumor em diferentes tipos de malignidades, incluindo carcinoma de ovário (XIE, 2001).

Os níveis de expressão sérica de IL-8 e IL-10 no grupo de doença ovariana benigna e no grupo de tumor ovariano maligno foram estatisticamente maiores do que os do grupo-controle saudável e tiveram proporção direta no estágio da doença (ZHANG *et al.*, 2019). O prognóstico em neoplasias malignas de ovário também mostrou relação direta com os níveis de IL-8 (SANGUINETE *et al.*, 2017).

Em pacientes com endometriose, os níveis plasmáticos de IL-8 estão elevados em comparação com os controles (MIHALYI *et al.*, 2010). A expressão de IL-8 aumentou significativamente em células endometrióticas em comparação com células endometriais de mulheres sem endometriose em um estudo *in vitro* (INVITTI *et al.*, 2018). Neste estudo, os níveis séricos de IL-8 mostraram-se elevados nas neoplasias malignas de ovário em relação à IL-8 plasmática das pacientes com endometriomas. Pela análise dos níveis séricos de IL-8 nos endometriomas e nas

neoplasias malignas de ovário pelos gráficos ROC, observou-se uma sensibilidade de 75% e uma especificidade de 73,3% para diferenciar essas duas morbidades, para um valor de corte de IL-8 de 56,2 pg/ml ($p=0.003$, $AUC=0.733$). Perante as hipóteses cada vez mais consistentes no meio científico da endometriose como fator de risco para neoplasia maligna de ovário (PEARCE *et al.*, 2012), diante dessa análise da curva ROC, observa-se um bom desempenho diagnóstico nos valores de IL-8 para discriminar essas duas morbidades. Os níveis séricos de IL-8 também se mostraram elevados nas pacientes com neoplasias malignas de ovário quando comparados com os das pacientes com diagnóstico de neoplasias benignas de ovário e lesões não neoplásicas de ovário.

A IL-2 é uma citocina com papel importante na imunorregulação nos processos patológicos. Ao mesmo tempo que são responsáveis por estimular as células T, promovendo as repostas imunes, regulam a atividade das células T reguladoras, que têm a função de controlar a atividade dos linfócitos (ABBAS *et al.*, 2018). Verificou-se, ao avaliar a função de IL-2 por meio da mensuração de Receptor Solúvel de Interleucina 2 (sIL-2R) em pacientes com neoplasias malignas e benignas de ovário, que as concentrações séricas de sIL-2R foram significativamente maiores nas pacientes com o diagnóstico de neoplasia maligna (GEBAUER *et al.*, 1999).

Othman *et al.* (2008) avaliaram os níveis séricos de citocinas no soro de pacientes com endometriose e compararam com o controle a fim de encontrar biomarcadores não cirúrgicos de predição de endometriose. Nesse estudo, os níveis séricos de IL-2 foram indetectáveis tanto nas mulheres com endometriose como nos controles (OTHMAN *et al.*, 2008). Nos resultados do nosso estudo, não tiveram significância estatística, avaliando o soro de pacientes com neoplasias ovarianas malignas, neoplasias ovarianas benignas, lesões não neoplásicas de ovário e endometriomas.

O TNF é uma citocina conhecida por sua característica antitumoral, induzindo à morte das células do câncer. No entanto, as células cancerígenas resistentes a essa citotoxicidade induzida pelo TNF- α são estimuladas à proliferação, angiogênese e progressão tumoral por essa mesma citocina (WANG; LIN, 2007).

Em uma avaliação *in vitro*, Kulbe *et al.* (2007) mostraram que o TNF- α produzida por células do tumor ovariano estimula outras citocinas e fatores angiogênicos, colaborando para a progressão do tumor e a neovascularização.

Terapias com antagonistas do TNF- α podem bloquear a produção de várias citocinas essenciais para o desenvolvimento e progressão do tumor ovariano (KULBE *et al.*, 2007). Estudo recente avaliou os níveis séricos de TNF- α dentre outras citocinas em mulheres com endometriose comparados com os níveis séricos de pacientes sem a doença e não foi encontrada diferença significativa dos níveis séricos dessa citocina entre os dois grupos (CHOI *et al.*, 2019). Outro estudo avaliando os níveis séricos de TNF- α em pacientes com endometriose e controle sem a doença, os níveis de TNF- α no sangue periférico foram maiores nas pacientes com diagnóstico histológico de endometriose, sendo considerado, nesse trabalho, um biomarcador sensível e específico para o diagnóstico dessa morbidade (GALO *et al.*, 2005). Já em um estudo de avaliação e comparação de citocinas em pacientes com endometriomas e neoplasias benignas e malignas de ovário, as concentrações séricas de TNF- α apresentaram-se mais altas em pacientes com câncer de ovário, seguidas por mulheres com endometrioma e aquelas com neoplasia ovariana benigna (SIPAK-SZMIGIEL *et al.*, 2017). Não obtivemos resultados com significância estatística, avaliando os níveis de TNF- α no soro de pacientes com neoplasias ovarianas malignas, neoplasias ovarianas benignas, lesões não neoplásicas de ovário e endometriomas.

Já é bem evidente, no meio científico, a configuração fluido peritoneal como microambiente tumoral fundamental para o desenvolvimento e a progressão das neoplasias de ovário (LENGYEL *et al.*, 2010). A avaliação do líquido peritoneal no contexto das neoplasias ovarianas, delineando seu perfil molecular e celular e relacionando-o aos resultados das terapias direcionadas e aos prognósticos, traz uma potencial otimização do tratamento e seguimento das pacientes com neoplasias de ovário.

A avaliação de múltiplas citocinas simultaneamente em ascite e plasma de pacientes com câncer de ovário mostrou um aumento significativo de IL-8, IL-6 e IL-10 e níveis significativamente reduzidos de IL-5 e IL-2 em ascites em comparação ao plasma (GIUNTOLI *et al.*, 2009).

Na avaliação de Radke *et al.* (1996), comparando ascite e plasma e pacientes com doenças ginecológicas benignas e neoplasias de ovário, em relação aos níveis de IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , que também foram citocinas avaliadas neste estudo, apresentaram-se níveis significativamente mais altos nas pacientes com neoplasia.

Nesse estudo, a IL-2 não teve um aumento significativo dos seus níveis no líquido ascítico e no plasma (RADKE *et al.*, 1996).

Ainda há muita pesquisa em torno da explicação da etiologia da endometriose. Hoje, a teoria da menstruação retrógrada é a mais aceita. No entanto, não se explicam os casos em que há menstruação retrógrada em mulheres sem diagnóstico de endometriose. Tudo flui no sentido de essa etiologia ser multifatorial, sendo o ambiente peritoneal fundamental para a explicação do desenvolvimento e progressão dessa doença. Hoje, sabe-se, no meio científico, que líquido peritoneal em pacientes com diagnóstico de endometriose é “imunologicamente dinâmico” (ORAL; OLIVE; ARICI, 1996).

Em um estudo *in vitro*, avaliou-se a produção de TNF- α , IL-8 e IL-10 por macrófagos peritoneais coletados de amostras de líquido peritoneal de pacientes com e sem endometriose submetidas à laparoscopia. Essas citocinas foram sintetizadas em quantidades acima do normal pelos macrófagos peritoneais das mulheres com endometriose e seus níveis no fluido peritoneal também se mostraram elevados nessas pacientes em relação ao controle (RANA *et al.*, 1996).

Os valores de IL-6, IL-10, Interleucina 13 (IL-13) e TNF- α foram maiores em líquido peritoneal de pacientes com endometriose em relação ao controle e apresentaram correlação com a endometriose complicada com infertilidade (WANG; MA; SONG, 2018). Os níveis de IL-2 no líquido peritoneal de mulheres com endometriose mostraram-se inferiores ao controle (DROSDZOL-COP; SKRZYPULEC-PLINTA; STOJKO, 2012) e não tiveram diferenças com significância estatística em relação a pacientes sem a doença em outro estudo (KRASNYI *et al.*, 2019). Os níveis de IL-5 no líquido peritoneal tenderam a ser mais altos em mulheres com endometriose quando comparados com mulheres sem esse diagnóstico (KOYAMA; MATSUURA; OKAMURA, 1993).

Na avaliação do líquido peritoneal neste estudo, obtiveram-se resultados com significância estatística somente na avaliação de IL-6 e IL-10, sendo que os níveis de IL-6 foram significativamente maiores no líquido peritoneal de pacientes com neoplasia maligna em relação às pacientes com neoplasia benignas de ovário. Houve uma correlação entre os valores de IL-10 no líquido peritoneal de pacientes com neoplasias malignas e endometriomas. As outras citocinas avaliadas nos quatro grupos do estudo não mostraram significância estatística em suas relações.

A avaliação do fluido intracístico nas massas anexiais tem o potencial de contribuir para o maior entendimento da fisiopatologia das mesmas. Os resultados dessa elucidação podem contribuir para o diagnóstico diferencial e o tratamento das patologias do ovário (YIGIT *et al.*, 2011). Na endometriose ovariana, o microambiente intracístico pode colaborar na explicação do maior risco de pacientes com endometriose terem o diagnóstico de câncer de ovário (FUKUNAGA *et al.*, 1997).

A associação de um ambiente intracístico rico em espécies reativas do oxigênio devido à oxidação da hemoglobina associada à inflamação crônica nos endometriomas ovarianos pode explicar a sua evolução para o carcinoma ovariano (WORLEY *et al.*, 2013).

Percebe-se, ao avaliar o estresse oxidativo no líquido intracístico das pacientes com carcinoma de ovário associado à endometriose, que os níveis mais baixos de metehemoglobina sugerem maior produção de espécies reativas do oxigênio nessas pacientes em relação a pacientes com endometrioma (IWABUCHI *et al.*, 2016). Em relação ao perfil inflamatório do líquido intracístico, Fasciani *et al.* (2010) mostraram aumento dos níveis de IL-8 em amostras de pacientes com endometriomas e carcinomas ovarianos em relação aos cistos serosos e foliculares de ovário.

A avaliação do perfil de citocinas nos líquidos dos cistos de neoplasias malignas e benignas do ovário mostrou um aumento de IL-6 e IL-8 nas neoplasias malignas em relação às neoplasias benignas. A IL-10 não teve seus níveis detectados e os níveis de IL-5 não tiveram diferença significativa entre os grupos (YIGIT *et al.*, 2011); correspondendo a esses achados, níveis de IL-8 foram significativamente maiores (13 vezes) nos líquidos de cistos de tumores malignos (18,1 +/- 7,5 ng/ml; média +/- SE) em comparação com cistos benignos (1,3 +/- 0,7 ng/ml) (IVARSSON *et al.*, 1998).

Martins-Filho *et al.* (2007) associaram os altos níveis de IL-6, IL-8 e Óxido Nítrico (NO) nas neoplasias malignas em relação a neoplasias benignas de ovário a um pior prognóstico. Em outros trabalhos, os níveis de IL-6 no líquido intracístico nas neoplasias malignas de ovário também se mostraram elevados quando comparados aos níveis dessa IL no líquido intracístico de neoplasias ovarianas benignas (MURTA *et al.*, 2004a; MURTA *et al.*, 2004b; VAN DER ZEE *et al.*, 1995).

A relação dos altos níveis de IL-6 também se relacionou a um pior prognóstico no estudo de Van der Zee *et al.* (1995). Em nosso estudo, também foi encontrado um nível maior de IL-6 no líquido intracístico das neoplasias malignas em relação às neoplasias benignas de ovário. Não houve significância estatística dessa IL nos outros grupos do estudo, assim como nas outras IL avaliadas nos líquidos císticos coletados.

Este estudo tem algumas limitações, incluindo o pequeno número de pacientes com neoplasias malignas e a heterogeneidade das neoplasias. Estudos com maior número de pacientes são necessários para maior esclarecimento da relação das citocinas nos endometriomas e nas neoplasias ovarianas.

8 CONCLUSÃO

Ao avaliar as interleucinas IL-2, IL-8 e TNF- α , IL-5, IL-6 e IL-10 no soro, lavado peritoneal e líquido intracístico de endometriomas, neoplasias malignas e benignas de ovário e tumores ovarianos não neoplásicos:

-Os níveis séricos de IL-6, IL-10 e IL-8 foram maiores nas pacientes com neoplasia maligna de ovário em relação às pacientes com endometriomas;

-Somente se encontrou uma correlação positiva nos níveis séricos de IL-5 e no lavado peritoneal de IL-10 nas neoplasias malignas e nos endometriomas.

Diante das evidências da endometriose como um fator de risco para o câncer de ovário, é necessária a busca de protocolos de seguimento mais rigorosos das pacientes com o diagnóstico de endometriomas. Os resultados com significância estatística mostraram utilidade nas concentrações séricas de IL-6, IL-10 e IL-8 como parâmetros que diferenciam endometriomas de neoplasias malignas de ovário, esboçando a viabilidade da dosagem sérica dessa citocina como um biomarcador viável para ser utilizado no diagnóstico diferencial dessas duas morbidades no seguimento dessas pacientes.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K. *et al.* Revisiting IL-2: Biology and therapeutic prospects. **Science Immunology**, Washington, v. 3, n. 25, pii: eaat1482, jul. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aat1482>. Acesso em: 18 jun. 2019.
- AGARWAL, S. K. *et al.* Clinical diagnosis of endometriosis: a call to action. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 220, n. 4, p. 354e1-354-e2, apr. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.12.039> Acesso em: 19 mar. 2019.
- AHN, S. H. *et al.* Pathophysiology and Immune Dysfunction in Endometriosis. **BioMed Research International**, New York, v. 2015, e795976, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/26247027/>. Acesso em: 25 set. 2019.
- AKOUM, A. *et al.* Ectopic endometrial cells express high concentrations of interleukin (IL)-8 in vivo regardless of the menstrual cycle phase and respond to oestradiol by up-regulating IL-1-induced IL-8 expression in vitro. **Molecular Human Reproduction**, Oxford, v. 7, n. 9, p. 859-866, sep. 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/molehr/7.9.859>. Acesso em: 29 ago. 2019.
- ANTSIFEROVA, Y. S. *et al.* Changes in the T-helper cytokine profile and in lymphocyte activation at the systemic and local levels in women with endometriosis. **Fertility and Sterility**, New York, v. 84, n. 6, p. 1705-1711, dec. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2005.05.066>. Acesso em: 29 fev. 2019.
- BESTE, M. T. *et al.* Molecular network analysis of endometriosis reveals a role for c-Jun-regulated macrophage activation. **Science Translational Medicine**, Washington, v. 6, n. 222, p. 222ra16, feb. 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4118592/>. Acesso em: 14 maio 2019.
- BLUMENTHAL, R. D. *et al.* Degranulating eosinophils in human endometriosis. **The American Journal of Pathology**, Philadelphia, v. 156, n. 5, p. 1581-1588, may 2000. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1876935/>. Acesso em: 12 jan. 2019.
- BONTIS, J. N.; VAVILIS, D. T. Etiopathology of endometriosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 816, p. 305-309, jun. 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1997.tb52155.x>. Acesso em: 11 fev. 2019.
- BROSENS, I. A.; PUTTEMANS, P. J.; DEPREST, J. The endoscopic localization of endometrial implants in the ovarian chocolate cyst. **Fertility and Sterility**, New York, v. 61, n. 6, p. 1034-1038, jun. 1994. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)56752-1](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)56752-1). Acesso em: 19 set. 2019.
- BROWNING, L. *et al.* IL-6 and ovarian cancer: inflammatory cytokines in promotion of metastasis. **Cancer Management and Research**, Auckland, v. 5, n. 10, p. 6685-6693, dec. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6287645/>. Acesso em: 28 jan. 2019.

BUSACCA, M.; VIGNALI, M. Ovarian endometriosis: from pathogenesis to surgical treatment. **Current Opinion in Obstetrics and Gynecology**, Philadelphia, v. 15, n. 4, p. 321-326, aug. 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/01.gco.0000084247.09900.4f>. Acesso em: 03 mar. 2019.

CABAL-HIERRO, L.; LAZO, P. S. Signal transduction by tumor necrosis factor receptors. **Cellular Signalling**, Oxford, v. 24, n. 6, p. 1297-1305, jun. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2012.02.006>. Acesso em: 10 mar. 2019.

CHAMIÉ, L. P. *et al.* Findings of pelvic endometriosis at transvaginal US, MR imaging, and laparoscopy. **Radiographics**, Easton, v. 31, n. 4, p. 77-100, jul./aug. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1148/rq.314105193>. Acesso em: 29 abr. 2019.

CHENE, G. *et al.* The ARID1A pathway in ovarian clear cell and endometrioid carcinoma, contiguous endometriosis, and benign endometriosis. **International Federation of Gynaecology and Obstetrics**, New York, v. 130, n. 1, p. 27-30, jul. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2015.02.021>. Acesso em: 14 jun. 2019.

CHIANG, A. J. *et al.* Risk factors in progression from endometriosis to ovarian cancer: a cohort study based on medical insurance data. **Journal of Gynecologic Oncology**, Seoul, v. 29, n. 3, p. e28, may 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5920215/>. Acesso em: 29 maio 2019.

CHOI, Y. S. *et al.* Elevated serum interleukin-32 levels in patients with endometriosis: A cross-sectional study. **American Journal of Reproductive Immunology**, New York, v. 82, n. 2, p. e13149, aug. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/aji.13149>. Acesso em: 26 jan. 2019.

DAWSON, A. *et al.* Endometriosis and endometriosis-associated cancers: new insights into the molecular mechanisms of ovarian cancer development. **Ecancermedicalscience**, Bristol, v. 25, n. 12, p. 803, jan. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5813919/>. Acesso em: 19 mar. 2019.

DROSDZOL-COP, A.; SKRZYPULEC-PLINTA, V.; STOJKO, R. Serum and peritoneal fluid immunological markers in adolescent girls with chronic pelvic pain. **Obstetrical and Gynecological Survey**, Baltimore, v. 67, n. 6, p. 374-381, jun. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/OGX.0b013e31825cb12b>. Acesso em: 21 set. 2019.

FASCIANI, A. *et al.* Vascular endothelial growth factor and interleukin-8 in ovarian cystic pathology. **Fertility and Sterility**, New York, v. 75, n. 6, p. 1218-1221, jun. 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(01\)01804-0](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(01)01804-0). Acesso em: 09 jan. 2019.

FUKUNAGA, M. *et al.* Ovarian atypical endometriosis: its close association with malignant epithelial tumours. **Histopathology**, Oxford, v. 30, n. 3, p. 249-255, mar. 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2559.1997.d01-592.x>. Acesso em: 08 fev. 2019.

GALO, S. *et al.* TNF-alpha serum levels in women with endometriosis: prospective clinical study. **Czech Gynaecology**, Praha, v. 70, n. 4, p. 286-290, jul. 2005. PMID: 16128129

GAZVANI, R.; TEMPLETON, A. Peritoneal environment, cytokines and angiogenesis in the pathophysiology of endometriosis. **Reproduction**, Cambridge, v. 123, n. 2, p. 217-226, feb. 2002. Disponível em: <https://rep.bioscientifica.com/doi/10.1530/rep.0.1230217>. Acesso em: 03 mar. 2019.

GEBAUER, G. *et al.* Prognostic relevance of soluble interleukin-2 receptors in patients with ovarian tumors. **Anticancer Research**, Athens, v. 19, n. 4A, p. 2509-2511, jul./aug. 1999. PMID: 10470184

GIUDICE, L. C. Growth factors and growth modulators in human uterine endometrium: their potential relevance to reproductive medicine. **Fertility and Sterility**, New York, v. 61, n. 1, p. 1-17, jan. 1994. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)56447-4](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)56447-4). Acesso em: 19 mar. 2019.

GIUNTOLI, R. L. *et al.* Ovarian cancer-associated ascites demonstrates altered immune environment: implications for antitumor immunity. **Anticancer Research**, Athens, v. 29, n. 8, p. 2875-2884, aug. 2009. PMID: 19661290

HARADA, T. *et al.* Increased interleukin 6 levels in peritoneal fluid of infertile patients with active endometriosis. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 176, n. 3, p. 593-597, mar. 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0002-9378\(97\)70553-2](https://doi.org/10.1016/s0002-9378(97)70553-2). Acesso em: 10 abr. 2019.

HART, R. J. *et al.* Excisional surgery versus ablative surgery for ovarian endometriomata. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, Oxford, n. 2, p. CD004992, apr. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004992.pub3>. Acesso em: 29 abr. 2019.

HIRSCH, M. *et al.* Diagnostic accuracy of cancer antigen 125 (CA125) for endometriosis in symptomatic women: a multi-center study. **European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology**, Amsterdam, v. 210, p. 102-107, mar. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.12.002>. Acesso em: 01 maio 2019.

INVITTI, A. L. *et al.* Inflammatory cytokine profile of co-cultivated primary cells from the endometrium of women with and without endometriosis. **Molecular Human Reproduction**, Oxford, v. 18, n. 2, p. 1287-1296, aug. 2018. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3892%2Fmhr.2018.9137>. Acesso em: 02 maio 2019.

IVARSSON, K. *et al.* The chemotactic cytokine interleukin-8--a cyst fluid marker for malignant epithelial ovarian cancer? **Gynecologic Oncology**, New York, v. 71, n. 3, p. 420-423, dec. 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/gyno.1998.5198>. Acesso em: 18 jun. 2019.

IWABE, T. *et al.* Gonadotropin-releasing hormone agonist treatment reduced sérum interleukin-6 concentrations in patients with ovarian endometriomas. **Fertility and Sterility**, New York, v. 80, n. 2, p. 300-304, aug. 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(03\)00609-5](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(03)00609-5). Acesso em: 08 jun. 2019.

IWABUCHI, T. *et al.* Cyst fluid hemoglobin species in endometriosis and its malignant transformation: the role of metallobiology. **Oncology Letters**, Athens, v. 11, n. 5, p. 3384-3388, mar. 2016. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3892%2Fol.2016.4383>. Acesso em: 14 jul. 2019.

IZUMI, G. *et al.* Involvement of immune cells in the pathogenesis of endometriosis. **The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, Tokyo, v. 44, n. 2, p. 191-198, feb. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jog.13559>. Acesso em: 03 set. 2019.

JOLINIERE, J. B. *et al.* It is necessary to purpose an add-on to the american classification of endometriosis? This disease can be compared to a malignant proliferation while remaining benign in most cases. EndoGram® is a new profile witness of its evolutionary potential. **Frontiers in Surgery**, Lausanne, v. 6, n. 27, jun. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6566301/>. Acesso em: 16 set. 2019.

KAJIHARA, H. *et al.* The dichotomy in the histogenesis of endometriosis-associated ovarian cancer: clear cell-type versus endometrioid-type adenocarcinoma. **International Journal of Gynecological Pathology**, New York, v. 31, n. 4, p. 304-312, jul. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/PGP.0b013e318243a97b>. Acesso em: 24 set. 2019.

KOCH, A. E. *et al.* Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis. **Science**, New York, v. 258, n. 5089, p. 1798-1801, dec. 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1281554>. Acesso em: 29 set. 2019.

KONDERA-ANASZ, Z. *et al.* Concentrations of interleukin (IL)-1alpha, IL-1 soluble receptor type II (IL-1 sRII) and IL-1receptor antagonist (IL-1 Ra) in the peritoneal fluid and sérum of infertile woman with endometriosis. **European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology**, Amsterdam, v. 123, n. 2, p. 198-203, dec. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2005.04.019>. Acesso em: 21 nov. 2019.

KONINCKX, P. R. *et al.* Heterogeneity of endometriosis lesions requires individualisation of diagnosis and treatment and a different approach to research and evidence based medicine. **Facts Views Vis Obgyn**, St-Niklaas, v. 11, n. 1, p. 57-61, mar. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6822957/pdf/FVVinObGyn-11-57.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2019.

KOYAMA, N.; MATSUURA, K.; OKAMURA, H. Cytokines in the peritoneal fluid of patients with endometriosis. **International Federation of Gynaecology and Obstetrics**, New York, v. 43, n. 1, p. 45-50, oct. 1993. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0020-7292\(93\)90273-y](https://doi.org/10.1016/0020-7292(93)90273-y). Acesso em: 24 out. 2019.

KRASNYI, A. M. *et al.* The content of cytokines IL-6, IL-8, TNF- α , IL-4 and the level of expression in macrophages CD86 and CD163 in peritoneal fluid has a reverse correlation with the degree of severity of external genital endometriosis.

Biomeditsinskaia Khimiia, Moskva, v. 65, n. 5, p. 432-436, aug. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.18097/PBMC20196505432>. Acesso em: 06 jan. 2019.

KULBE, H. *et al.* The inflammatory cytokine tumor necrosis factor-alpha generates an autocrine tumor-promoting network in epithelial ovarian cancer cells. **Cancer**

Research, Chicago, v. 67, n. 2, p. 585-592, jan. 2007. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/17234767/>. Acesso em: 25 set. 2019.

KUMAR, S. *et al.* Prognostic analysis of ovarian cancer associated with endometriosis. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 204, n. 1, p. 63e1-7, jan. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.08.017>

LENGYEL, E. Ovarian cancer development and metastasis. **The American Journal of Pathology**, Philadelphia, v. 177, n. 3, p. 1053-1064, sep. 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/20651229/>. Acesso em: 15 out. 2019.

LONGO, L. D. Classic pages in obstetrics and gynecology. Aberrant portions of the müllerian duct found in an ovary: William Wood Russell Johns Hopkins Hospital Bulletin, vol. 10, pp. 8--10, 1899. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 134, n. 2, p. 225-226, 1979. PMID: 377966

MACCIÒ, A.; MADEDDU, C. Inflammation and ovarian cancer. **Cytokine**, Philadelphia, v. 58, n. 2, p. 133-147, may 2012. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.01.015>. Acesso em: 22 jan. 2019.

MAHNKE, J. L.; DAWOOD, M. Y.; HUANG, J. C. Vascular endothelial growth factor a interleukin in peritoneal fluid of women with endometriosis. **Fertility and Sterility**, New York, v. 73, n. 1, p. 166-170, jan. 2000. Disponível em:

[https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(99\)00466-5](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(99)00466-5). Acesso em: 19 abr. 2019.

MĂLUȚAN, A. M. *et al.* Serum anti-inflammatory cytokines for the evaluation of inflammatory status in endometriosis. **Journal of Research in Medical Sciences**, Isfahan, v. 20, n. 7, p. 668-674, 2015. Disponível em:

<https://dx.doi.org/10.4103%2F1735-1995.166215>. Acesso em: 29 maio 2019.

MAO, A. J.; ANASTASI, J. K. Diagnosis and management of endometriosis: the role of advanced practice nurse in primary care. **Journal of the American Academy of Nurse Practitioners**, Philadelphia, v. 22, n. 2, p. 109-116, feb. 2010. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1745-7599.2009.00475.x>. Acesso em: 15 out. 2019.

MARTINS-FILHO, A. *et al.* Role of Intracystic Cytokines and Nitric Oxide in Ovarian Neoplasms. **Scandinavian Journal of Immunology**, Oslo, v. 86, n. 6, p. 462-470, dec. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/sji.12617>. Acesso em: 23 mar. 2019.

MIHALYI, A. *et al.* Non-invasive diagnosis of endometriosis based on a combined analysis of six plasma biomarkers. **Human Reproduction**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 654-664, mar. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/humrep/dep425>. Acesso em: 01 fev. 2019.

MONSANTO, S. P. *et al.* Surgical removal of endometriotic lesions alters local and systemic proinflammatory cytokines in endometriosis patients. **Fertility and Sterility**, New York, v. 105, n. 4, p. 968-977, apr. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.11.047>. Acesso em: 03 abr. 2019.

MUNKSGAARD, P. S.; BLAAKAER, J. The association between endometriosis and gynecological cancers and breast cancer: a review of epidemiological data. **Gynecologic Oncology**, New York, v. 123, n. 1, p. 157-163, oct. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2011.06.017>. Acesso em: 04 maio 2019.

MURTA, B. M. T. *et al.* Differential tumor microenvironment in human ovarian cystic tumors. **Tumori**, Milano, v. 90, n. 5, p. 491-497, sep./oct. 2004a. PMID: 15656335

MURTA, E. F. *et al.* Ultrasonographic criteria and tumor marker assay are good procedures for the diagnosis of ovarian neoplasia in preselected outpatients. **European Journal of Gynaecological Oncology**, Padua, v. 25, p. 707-712, 2004b. PMID: 15597847

MURTA, E. F. C.; NOMELINI, R. S. Early diagnosis and predictors of malignancy in the evaluation of adnexal mass. **Current Opinion in Obstetrics and Gynecology**, Philadelphia, v. 18, n. 1, p. 14-19, feb. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/01.gco.0000192967.67567.e9>. Acesso em: 05 jun. 2019.

NATIONAL GUIDELINE ALLIANCE. **Endometriosis**: diagnosis and management. London: National Institute for Health and Care Excellence, 2017.

NEZHAT, F. R. *et al.* New insights in the pathophysiology of ovarian cancer and implications for screening and prevention. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 213, n. 3, p. 262-267, sep. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.03.044>. Acesso em: 06 jul. 2019.

NILSSON, M. B.; LANGLEY, R. R.; FIDLER, I. J. Interleukin-6, secreted by human ovarian carcinoma cells, is a potent proangiogenic cytokine. **Cancer Research**, Chicago, v. 65, n. 23, p. 10794-10800, dec. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-0623>. Acesso em: 07 ago. 2019.

NISENBLAT, V. *et al.* Blood biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, Oxford, n. 5, p. CD012179, may 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012179>. Acesso em: 08 set. 2019.

OLIVEIRA, J. G. A. *et al.* Transvaginal ultrasound in deep endometriosis: pictorial essay. **Radiologia Brasileira**, São Paulo, v. 52, n. 5, p. 337-341, sep./oct. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-3984.2018.0019>. Acesso em: 09 out. 2019.

OOSTERLYNCK, D. J. *et al.* Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. **Fertility and Sterility**, New York, v. 56, n. 1, p. 45-51, jul. 1991. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)54414-8](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)54414-8). Acesso em: 10 nov. 2019.

ORAL, E.; OLIVE, D. L.; ARICI, A. The peritoneal environment in endometriosis. **Human Reproduction Update**, Oxford, v. 2, n. 5, p. 358-398, sep./oct. 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/humupd/2.5.385>. Acesso em: 11 jan. 2019.

OTHMAN, Eel-D. *et al.* Serum cytokines as biomarkers for nonsurgical prediction of endometriosis. **European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology**, Amsterdam, v. 137, n. 2, p. 240-246, apr. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2007.05.001>. Acesso em: 12 fev. 2019.

PAIK, E. S. *et al.* Clinical outcomes of patients with clear cell and endometrioid ovarian cancer arising from endometriosis. **Journal of Gynecologic Oncology**, Seoul, v. 29, n. 2, p. e18, mar. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3802/jgo.2018.29.e18>. Acesso em: 13 mar. 2019.

PEARCE, C. L. *et al.* Association between endometriosis and risk of histological subtypes of ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. **The Lancet. Oncology**, London, v. 13, n. 4, p. 385-394, apr. 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC22361336/>. Acesso em: 14 abr. 2019.

PIZZO, A. *et al.* Behaviour of cytokine levels in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis. **Gynecologic and Obstetric Investigatio**, Basel, v. 54, n. 2, p. 82-87, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000067717>. Acesso em: 15 maio 2019.

PONTIKAKI, A.; SIFAKIS, S.; SPANDIDOS, D. A. Endometriosis and breast cancer: A survey of the epidemiological studies. **Oncology Letters**, Athens, v. 11, n. 1, p. 23-30, jan. 2016. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3892%2Fol.2015.3895>. Acesso em: 16 jun. 2019.

RADKE, J. *et al.* -Cytokine level in malignant ascites and peripheral blood of patients with advanced ovarian carcinoma. **Geburtshilfe und Frauenheilkunde**, Stuttgart, v. 56, n. 2, p. 83-87, feb. 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-2007-1022247>. Acesso em: 17 jul. 2019.

RANA, N. *et al.* Basal and stimulated secretion of cytokines by peritoneal macrophages in women with endometriosis. **Fertility and Sterility**, New York, v. 65, n. 5, p. 925-930, may 1996. PMID: 8612850

RODGERS, A. K.; FALCONE, T. Treatment strategies for endometriosis. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, London, v. 9, n. 2, p. 243-255, feb. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1517/14656566.9.2.243>. Acesso em: 18 ago. 2019.

ROSSING, M. A. *et al.* Risk of epithelial ovarian cancer in relation to benign ovarian conditions and ovarian surgery. **Cancer Causes and Control**, Oxford, v. 19, n. 10, p. 1357-1364, dec. 2008. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1007%2Fs10552-008-9207-9>. Acesso em: 19 set. 2019.

RUDERMAN, R.; PAVONE, M. E. Ovarian cancer in endometriosis: an update on the clinical and molecular aspects. **Minerva Ginecológica**, Torino, v. 69, n. 3, p. 286-294, jun. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.23736/S0026-4784.17.04042-4>. Acesso em: 20 out. 2019.

SAAVALAINEN, L. *et al.* A nationwide cohort study on the risk of non-gynaecological cancers in women with surgically verified endometriosis. **International Journal of Cancer**, Genève, v. 143, n. 11, p. 2725-2731, dec. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ijc.31721>. Acesso em: 21 nov. 2019.

SALMERI, F. M. *et al.* Behavior of tumor necrosis factor- α and tumor necrosis factor receptor 1/tumor necrosis factor receptor 2 system in mononuclear cells recovered from peritoneal fluid of women with endometriosis at different stages. **Reproductive Sciences**, Thousand Oaks, v. 22, n. 2, p. 165-172, feb. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1933719114536472>. Acesso em: 31 jan. 2019.

SAMPSON, J. A. Endometrial carcinoma of the ovary, arising in endometrial tissue in that organ. **Archives of Surgery**, Chicago, v. 10, n. 1, p. 1-72, jan. 1925. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/archsurg.1925.01120100007001>. Acesso em: 28 fev. 2019.

SANGUINETE, M. M. M. *et al.* Serum IL-6 and IL-8 Correlate with Prognostic Factors in Ovarian Cancer. **Immunological Investigations**, New York, v. 46, n. 7, p. 677-688, oct. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/08820139.2017.1360342>. Acesso em: 31 mar. 2019.

SASSON, I. E.; TAYLOR, H. S. Stem cells and the pathogenesis of endometriosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 1127, p. 106-115, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1196/annals.1434.014>. Acesso em: 30 abr. 2019.

SCHIPPER, E.; NEZHAT, C. Video-assisted laparoscopy for the detection and diagnosis of endometriosis: safety, reliability, and invasiveness. **International Journal of Women's Health**, Auckland, v. 4, p. 383-393, apr. 2012. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.2147%2FIJWH.S24948>. Acesso em: 31 maio 2019.

SHIH, IeM.; KURMAN, R. J. Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. **The American Journal of Pathology**, Philadelphia, v. 164, n. 5, p. 1511-1518, may 2004. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)63708-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)63708-x). Acesso em: 30 jun. 2019.

SIKORA, J.; MIELCZAREK-PALACZ, A.; KONDERA-ANASZ, Z. Role of natural killer cell activity in the pathogenesis of endometriosis. **Current Medicinal Chemistry**, Schiphol, v. 18, n. 2, p. 200-208, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/092986711794088416>. Acesso em: 31 jul. 2019.

SIPAK-SZMIGIEL, O. *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. **Journal of Ovarian Research**, London, v. 10, n. 1, p. 25, apr. 2017. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5381140/>. Acesso em: 31 ago. 2019.

SIUFI NETO, J. *et al.* Cellular, histologic, and molecular changes associated with endometriosis and ovarian cancer. **Journal of Minimally Invasive Gynecology**, Philadelphia, v. 21, n. 1, p. 55-63, jan./feb. 2014. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.jmig.2013.07.021>. Acesso em: 30 set. 2019.

SOMIGLIANA, E. *et al.* Modulation of NK cell lytic function by endometrial secretory factors: potential role in endometriosis. **American Journal of Reproductive Immunology**, New York, v. 36, n. 5, p. 295-300, nov. 1996. Disponível em:

<https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.1996.tb00179.x>. Acesso em: 31 out. 2019.

TAKATSU, K. Interleukin-5 and IL-5 receptor in health and diseases. **Proceedings of the Japan Academy**, Ueno Park, v. 87, n. 8, p. 463-485, 2011. Disponível em:

<https://doi.org/10.2183/pjab.87.463>. Acesso em: 30 nov. 2019.

TRIFUNOVIĆ, J. *et al.* Pathologic patterns of interleukin 10 expression--a review. **Biochemia Medica**, Zagreb, v. 25, n. 1, p. 36-48, 2015. Disponível em:

<https://doi.org/10.11613/BM.2015.004>. Acesso em: 10 jan. 2019.

TSUDO, T. *et al.* Altered gene expression and secretion of interleukin 6 in stromal cells derived from endometriotic tissues. **Fertility and Sterility**, New York, v. 73, n. 2, p. 205-211, feb. 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(99\)00496-3](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(99)00496-3). Acesso em: 10 fev. 2019.

VAN DER ZEE, A. G. *et al.* Higher levels of interleukin-6 in cystic fluids from patients with malignant versus benign ovarian tumors correlate with decreased hemoglobin levels and increased platelet counts. **Cancer**, New York, v. 75, n. 4, p. 1004-1009, feb. 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19950215\)75:4%3C1004::aid-cnrcr2820750416%3E3.0.co;2-g](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19950215)75:4%3C1004::aid-cnrcr2820750416%3E3.0.co;2-g). Acesso em: 10 mar. 2019.

VAN HOLSBEKE, C. *et al.* Endometriomas: their ultrasound characteristics.

Ultrasound in Obstetrics & Gynecology, Carnforth, v. 35, n. 6, p. 730-740, jun. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/uog.7668>. Acesso em: 10 abr. 2019.

VIGANÒ, P. *et al.* Endometriosis: epidemiology and aetiological factors. **Best Practice & Research. Clinical Obstetrics & Gynaecology**, Amsterdam, v. 18, n. 2,

p. 177-200, apr. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2004.01.007>. Acesso em: 28 ago. 2019.

WANG, X. M.; MA, Z. Y.; SONG, N. Inflammatory cytokines IL-6, IL-10, IL-13, TNF- α and peritoneal fluid flora were associated with infertility in patients with endometriosis. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, Rome, v. 22, n. 9, p. 2513-2518, may 2018. Disponível em:

https://doi.org/10.26355/eurrev_201805_14899. Acesso em: 24 set. 2019.

WANG, X.; LIN, Y. Tumor necrosis factor and cancer, buddies or foes? **Acta pharmacologica Sinica**, Beijing, v. 29, n. 11, p. 1275-1288, nov. 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/18954521/>. Acesso em: 29 set. 2019.

WEI, J. J.; WILLIAM, J.; BULUN, S. Endometriosis and ovarian cancer: a review of clinical, pathologic and molecular aspects. **International Journal of Gynecological Pathology**, New York, v. 30, n. 6, p. 553-568, nov. 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4130217/>. Acesso em: 02 ago. 2019.

WINGFIELD, M. *et al.* Cell proliferation is increased in the endometrium of women with endometriosis. **Fertility and Sterility**, New York, v. 64, n. 2, p. 340-346, aug. 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)57733-4](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)57733-4)

WORLEY, M. J. *et al.* Endometriosis-associated ovarian cancer: a review of pathogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 14, n. 3, p. 5367-5379, mar. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms14035367>. Acesso em: 03 set. 2019.

XIAO, W.; AWADALLAH, A.; XIN, W. Loss of ARID1A/BAF250a expression in ovarian endometriosis and clear cell carcinoma. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, Madison, v. 5, n. 7, p. 642-650, sep. 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3438773/pdf/ijcep0005-0642.pdf>. Acesso em: 25 set. 2019.

XIE, K. Interleukin-8 and human cancer biology. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, Oxford, v. 12, n. 4, p. 375-391, dec. 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s1359-6101\(01\)00016-8](https://doi.org/10.1016/s1359-6101(01)00016-8). Acesso em: 27 out. 2019.

YIGIT, R. *et al.* Cytokine profiles in cyst fluids from ovarian tumors reflect immunosuppressive state of the tumor. **International Journal of Gynecological Cancer**, Cambridge, v. 21, n. 7, p. 1241-1247, oct. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/IGC.0b013e3182289ab1>. Acesso em: 28 set. 2019.

ZHANG, L. *et al.* Prognostic value of serum IL-8 and IL-10 in patients with ovarian cancer undergoing chemotherapy. **Oncology Letters**, Athens, v. 17, n. 2, p. 2365-2369, feb. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6350276/pdf/ol-17-02-2365.pdf>. Acesso em: 24 out. 2019.

ZHOU, J. *et al.* The expression of interleukin-10 in patients with primary ovarian epithelial carcinoma and in ovarian carcinoma cell lines. **The Journal of International Medical Research**, Northampton, v. 35, n. 3, p. 290-300, may/jun. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/147323000703500302>. Acesso em: 21 nov. 2019.

ZHU, X. *et al.* Clinicopathologic and prognostic significance of serum levels of cytokines in patients with advanced serous ovarian cancer prior to surgery. **Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi**, Beijing, v. 39, n. 10, p. 666-670, oct. 2010. PMID: 21176531

ANEXOS

ANEXO A – Parecer consubstanciado do CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO - MG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do estroma em neoplasia epitelial de ovário e sua relação com fatores prognósticos

Pesquisador: Rosekeila Simões Nomelini

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 34770014.4.0000.5154

Instituição Proponente: Universidade Federal do Triangulo Mineiro

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE MINAS GERAIS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 877.759

Data da Relatoria: 30/10/2014

Apresentação do Projeto:

O câncer de ovário

O câncer de ovário é uma causa comum de morte entre as neoplasias malignas ginecológicas. Cerca de três quartos dos tumores malignos de ovário apresenta-se em estadiamentos avançados no momento do diagnóstico inicial. É o câncer ginecológico de maior letalidade [1,2].

A maioria das pacientes se encontra em estadiamentos III e IV (FIGO) no momento do diagnóstico [3]. Nesses casos, a principal estratégia terapêutica é a cirurgia de citorredução, seguida de quimioterapia [4]. Apesar dos esquemas quimioterápicos derivados do platinum e, mais recentemente, dos taxanos, os resultados do tratamento não têm obtido melhora importante nas últimas décadas [5]. nos estadiamentos I e II, a sobrevida em 5 anos varia de 80 a 95%, enquanto que nos estadiamentos III e IV, essa porcentagem é de apenas 5 a 15% [5-7].

Os marcadores tumorais são substâncias relacionadas à presença ou à progressão de um tumor. O CA – 125 (cancer antigen 125) é um biomarcador não específico para o câncer de ovário, podendo estar elevado no primeiro trimestre da gestação, endometriose, infecções pélvicas e outros tipos de câncer [8]. Mas se associado a outros como o CA - 15.3, CA - 72.4 e CA - 19.9, pode ter aplicação no manejo de massas anexiais [9]. O CA - 19.9 pode estar elevado no subtipo mucinoso, o beta-hCG pode estar aumentado nos tumores de origem germinativa e também no

Endereço: Rua Madre Maria José, 122

Bairro: Nossa Sra. Abadia

CEP: 38.025-100

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3318-5776

Fax: (34)3318-5776

E-mail: cep@pesqpg.uftm.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO - MG



Continuação do Parecer: 877.759

coriorcarcinoma [10]. Murta et al. (2004) demonstraram a validade da associação de ultrassonografia e marcadores tumorais na identificação de neoplasias ovarianas, melhorando a sensibilidade e a especificidade como fator preditor de malignidade e conduzindo o cirurgião ao melhor tratamento [11]. Assim, a utilização de marcadores tumorais tem validade na diferenciação de massas ovarianas benignas e malignas, além de sugerir o subtipo histológico [12].

Rossi et al. (2004) estudaram o CA 125 como fator prognóstico (estudo retrospectivo de 82 pacientes), e demonstraram que esse marcador correlacionou com o estadiamento da FIGO, mas não com a idade, o grau, a doença residual após cirurgia, e intervalo livre de doença [13]. Santillan et al. (2005) avaliaram o risco de recidiva de câncer epitelial de ovário em pacientes com níveis séricos de CA125 menor que 35m U/ml, e demonstraram que um aumento progressivo de seus valores, mesmo ainda em níveis normais, poderia ser indicativo de recorrência da doença [14]. Paramasivam et al. (2005) mostraram que o estadiamento cirúrgico completo, o grau histopatológico e os níveis pré-operatórios de CA125 são fatores prognósticos independentes e poderiam ser incluídos como fatores de decisão da realização de quimioterapia [15]. Muramatsu et al. (2005) demonstraram que na avaliação de CA 125 e CA 19.9 séricos e do diâmetro tumoral em pacientes com estágio IA e IC, houve diferenças significativas entre os estádios [16].

Uma outra alternativa em estudo é a avaliação do microambiente tumoral intracístico. 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 de ovário [17,18].

Estudos mostram que outros marcadores podem ser usados nos diagnósticos das neoplasias ovarianas: HE4, GDF-15, Ca 72.4, Octamer-4, Nectin-4, progranulina. O GDF-15 atua como biomarcador de prognóstico potencialmente útil no carcinoma do ovário. O GDF-15 é induzido por citocinas inflamatórias, tais como interleucina-1 e fator de necrose tumoral. Seu aumento está associado a situações patológicas relacionadas à inflamação, lesão tecidual aguda, e malignidade [19]. O GDF-15 é membro da família TGF-beta, também chamada de citocina-1 inibidora de macrófagos (MIC-1), sendo originalmente identificado em linhagens celulares ativadas por macrófagos. O GDF-15 regula uma grande variedade de procesos fisiológicos, como indução de apoptose e invasividade tumoral [20]. Concentrações elevadas também têm sido associadas a com um aumento do risco de eventos cardiovasculares em mulheres de idade avançada [21].

A progranulina é encontrada no cromossomo 17q, que pode promover a angiogênese e invasão tumoral. Pode existir uma relação entre os níveis séricos de progranulina e a sobrevida global e livre de doença em câncer epitelial de ovário [22]. Progranulina é um fator de crescimento que pode mediar a progressão do ciclo celular e a motilidade celular. Ela regula a inflamação; pode ter

Endereço: Rua Madre Maria José, 122

Bairro: Nossa Sra. Abadia

CEP: 38.025-100

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3318-5776

Fax: (34)3318-5776

E-mail: cep@pesqg.ufm.edu.br

Continuação do Parecer: 677.759

ação anti-inflamatória, inibindo algumas ações do fator de necrose tumoral [23].

Citocinas

As citocinas são proteínas expressas pelo sistema imunológico determinantes na regulação da função, crescimento e diferenciação deste, apresentando funções-chave na defesa do hospedeiro. Interleucinas compõem um grande grupo das citocinas produzidas principalmente por células T, embora algumas sejam sintetizadas também por macrófagos e células teciduais. Possuem grande variedade de funções, mas a maioria delas está envolvida na indução da divisão de outras células. As interleucinas são citocinas importantes no estudo da interação tumor-hospedeiro, possuindo propriedades pró ou antitumorais [24]. A inflamação crônica é associada a várias etapas da tumorigênese, incluindo a transformação, proliferação e invasão celular, angiogênese e metástase [25]. As citocinas podem estimular o crescimento celular e contribuir para a metástase. Se permanentemente sintetizadas, estas substâncias podem ser utilizadas como marcadores de ativação do sistema imune. A participação das citocinas na oncogênese revela suas atuações (isolada ou em conjunto com outras citocinas) em atividades imunomoduladoras da resposta imunológica contra neoplasias e, conseqüentemente, na sinalização entre células inflamatórias e o tecido neoplásico. Essa sinalização poderia inferir ou não em vantagens seletivas ao crescimento das células malignas [26,27].

Além da atividade tradicional da IL-2 na promoção do crescimento dos linfócitos T, ela também participa da ativação, crescimento e estímulo da função tumoricida das células NK [28]. Altos níveis de IL-2 significam aumento dos componentes do sistema imune no ataque contra as células cancerosas. Assim, a IL-2 é utilizada no tratamento de alguns cânceres [29,30]. A IL-6 influencia a função ovariana e no processo de ovulação, fertilização e implantação [31]. Pode estar associada à progressão tumoral através da apoptose de células malignas [32]. É relatada como fator prognóstico do câncer ovariano [33]. Produzidas por macrófagos, monócitos e linfócitos, as interleucinas 8 (IL-8) e 10 (IL-10) podem exercer vários efeitos sobre o sistema imune e estão relacionadas a angiogênese, crescimento e proliferação das células cancerosas [34].

A IL-8 é uma citocina pró-inflamatória, originalmente identificada como quimioatrativa de neutrófilos, esta citocina é produzida por células epiteliais, fibroblastos e tumorais, as quais também possuem receptores para esta interleucina [35]. Sua expressão em células do melanoma humano e do câncer ovariano está correlacionada ao potencial metastático do tumor [24,37,38].

Endereço: Rua Madre Maria José, 122
Bairro: Nossa Sra. Abadia **Cid¹:** 38.025-100
UF: MG **Município:** LIBERABA
Telefone: (34)3318-5776 **Fax:** (34)3318-5776 **E-mail:** cep@pesqpg.ufm.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO - MG



Continuação do Parecer: 877.759

A IL-10 é uma citocina multifuncional, produzidas pelos linfócitos Th2, 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 [39], as quais são capazes de produzir IL-8, acarretando a progressão da malignidade [34,40]. Estudo realizado por Llanes-Fernandez et al. (2009) evidenciou associação inversa entre a IL-10 e a p53, o que reflete o efeito supressor da IL-10 no microambiente do tumor, e sua associação inversa com um marcador de apoptose foi sugerido como indicativo do aumento da agressividade do tumor. Uma possível explicação para o resultado encontrado é o bloqueio da expressão de algumas citocinas pela p53, todavia a regulação negativa destas moléculas pode ser perdida quando há uma deficiência da p53 ocasionada, por exemplo, por mutações [38].

Enquanto algumas citocinas estimulam a proliferação e a invasão do câncer, outras, como os interferons, inibem este processo. O interferon gama (IFN-) é produzido principalmente pelas células Th1 CD4+, CD8+ e NK. Seu efeito antiproliferativo provavelmente é devido ao aumento da morte celular por estimular a atividade de algumas enzimas caspases e exercer atividade antiangiogênica [40] e antitumoral [33]. O TNF- além de ser um dos principais mediadores da inflamação, também é produzido por tumores. Seu papel na tumorigênese inclui transformação e proliferação celular na invasão, angiogênese e metástase [41,42].

Estroma em carcinoma epitelial de ovário

Um grande progresso tem ocorrido no entendimento do papel do sistema imune na progressão tumoral nos últimos anos. A presença de células mononucleares tumor-infiltrantes consiste em linfócitos T auxiliares e citotóxicas, células natural - killer, linfócitos B e macrófagos, demonstrando uma resposta imune ativa possivelmente direcionada contra os antígenos tumorais. A maioria das células T infiltrantes são linfócitos T CD8+ que poderiam mediar uma citotoxicidade específica contra células tumorais. Por outro lado, os macrófagos (células CD68) são importantes no recrutamento e ativação de linfócitos na presença desses antígenos. Porém, há uma heterogeneidade de macrófagos, podendo resultar em funções antagonistas, podendo inibir ou estimular a proliferação de células tumorais [43,44]. A presença de linfócitos-T infiltrantes (TIL) pode se correlacionar com melhor prognóstico em vários tumores, mas há resultados conflitantes da significância prognóstica de TIL em neoplasia maligna epitelial de ovário [45,46].

Na literatura, tem sido demonstrado que grande número de células T CD3+ são indicativas de uma

Endereço: Rua Madre Maria José, 122
Bairro: Nossa Sra. Abadia **CEP:** 38.025-100
UF: MG **Município:** UBERABA
Telefone: (34)3318-5776 **Fax:** (34)3318-5776 **E-mail:** cep@pesqg.ufm.edu.br

Continuação do Parecer: 877.759

melhor sobrevida em neoplasia maligna de ovário [46,47], e que os linfócitos T CD-8+ são responsáveis por esse efeito [45,48,49]. Por outro lado, a presença de linfócitos T CD4+ regulatórios parecem reduzir a imunidade específica contra tumores, resultando em pobre sobrevida [50]. A localização de TILs nos tumores tem-se mostrado por ser importante fator prognóstico em câncer de ovário [45,51].

A infiltração de células imunes peri e intratumorais podem ser fatores preditores de resposta à quimioterapia [47,49]. Bösmüller et al. (2011) mostraram que a densidade de células T CD3+ e CD8+ no estroma tumoral pode ser um fator preditor da resposta à terapia baseada em platinum [52].

Linfócitos T CD4+ regulatórios (Treg) podem induzir a uma tolerância e suprimir a resposta imune, o que é feito através da secreção de TGF- β e interleucina 10 (IL-10), ou por contato direto célula-célula [50]. Os estudos demonstram uma propensão a localização dessas células na região peritumoral [53,54].

É bem estudado que o microambiente tumoral desempenha um papel importante no comportamento do tumor. O estroma pode controlar o crescimento de tumores e invasão. Este compartimento tem uma grande influência relacionada com a resposta imune. A infiltração de células imunes em tumores pode até mesmo determinar a evolução e o prognóstico da doença, e a interação entre as células neoplásicas e o estroma é um fator crítico para o crescimento do tumor [55]. Por isso, o compartimento que será avaliado nesse estudo na imuno-histoquímica para TILs será o estromal.

Recentemente, estudos demonstraram que fibroblastos associados a carcinoma (CAFs) podem promover diretamente tumorigênese através de múltiplos mecanismos, incluindo a angiogênese, proliferação, invasão e supressão imune [56, 57]. Esses efeitos são mediados através da expressão e secreção de vários fatores de crescimento, como o TGF- β , VEGF e interleucina-8 (IL8) [58]. Esses efeitos são também estabelecidos pela modulação e status de diferenciação de células inflamatórias no microambiente tumoral [59]. Além disso, CAFs poderiam afetar a sensibilidade das células do tumor à quimioterapia e à radioterapia [60]. FAP e SMA são considerados marcadores para CAFs em vários tipos de tumores. A eliminação de CAFs in vivo através de uma vacina de DNA cujo alvo é a proteína alfa de ativação dos fibroblastos (FAP) resultou em uma mudança do microambiente imune do padrão Th2 para Th1, melhorando os efeitos antimetastáticos da quimioterapia com doxorubicina em um modelo murino de câncer de mama [61]. FAP exercem um papel importante na predição da agressividade tumoral em pacientes com carcinoma epitelial de ovário após terapia neoadjuvante. CAFs podem exercer um importante papel

Endereço: Rua Madre Maria José, 122

Bairro: Nossa Sra. Abadia

CEP: 38.025-100

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3318-5776

Fax: (34)3318-5776

E-mail: cep@pesqpg.ufm.edu.br

Continuação do Parecer: 877.759

também na progressão do câncer e metástases, podendo ser alvo para novas estratégias terapêuticas [62, 63].

Dessa forma, parece existir um estreita relação entre CAFs e resposta imune tumoral, o que justifica o estudo dessa relação em neoplasias malignas epiteliais de ovário.

Objetivo da Pesquisa:

1. Investigar a expressão imunohistoquímica de dois marcadores de fibroblastos associados a carcinoma (CAFs), a alfa actina de músculo liso (SMA) e a proteína alfa de ativação dos fibroblastos (FAP), no compartimento estromal de neoplasias benignas e malignas epiteliais de ovário.
2. Investigar a expressão imunohistoquímica citocinas (IL-2, IL-6, IL-10 e TNF-alfa) e de linfócitos tumor-infiltrantes - TILs (CD3, CD4 e CD8) no estroma de neoplasias benignas e malignas epiteliais de ovário.
3. Relacionar a expressão de SMA e FAP com a expressão de citocinas e TILs no estroma de neoplasias malignas de ovário e com a dosagem dessas mesmas citocinas no soro e líquido intracístico.
4. Relacionar a expressão de SMA e FAP, e a expressão de citocinas e TILs no compartimento estromal com fatores prognósticos em carcinoma epitelial de ovário.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos inerentes à pesquisa, já que os protocolos clínicos e cirúrgicos serão mantidos, o lavado peritoneal já faz parte da rotina do procedimento cirúrgico, e a punção do cisto de ovário será realizada após a exérese do mesmo, não prolongando em nada o tempo cirúrgico e nem interferindo no procedimento. O único desconforto devido à pesquisa poderá ser causado pela coleta de sangue, o que será minimizado por ser realizado por profissional habilitado e com as explicações pertinentes oferecidas às pacientes. O risco da perda de confidencialidade será prevenido pela utilização de números e/ou letras para identificação dos casos.

Os benefícios são consequência da melhor compreensão da fisiopatologia da doença e identificação de fatores relacionados ao prognóstico. Considerando que a avaliação clínica e os elementos utilizados para o estudo são parte do diagnóstico e condutas terapêuticas de rotina,

Endereço: Rua Madre Maria José, 122
Bairro: Nossa Sra. Abadia **CEP:** 38.025-100
UF: MG **Município:** UBERABA
Telefone: (34)3318-5776 **Fax:** (34)3318-5776 **E-mail:** cep@pesqpg.ufm.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO - MG



Continuação do Parecer: 877.759

não há riscos adicionais às pacientes referentes à pesquisa. Os benefícios são consequência da melhor compreensão da fisiopatologia da doença e identificação de fatores relacionados ao prognóstico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

pendências atendidas

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

pendências atendidas

Recomendações:

pendências atendidas

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

pendências atendidas

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

UBERABA, 19 de Novembro de 2014

Assinado por:
ANA PALMIRA SOARES DOS SANTOS
(Coordenador)

Endereço: Rua Madre Maria José, 122

Bairro: Nossa Sra. Abadia

CEP: 38.025-100

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3318-5776

Fax: (34)3318-5776

E-mail: cep@pesqpg.ufm.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO - MG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do estroma em neoplasia epitelial de ovário e sua relação com fatores prognósticos

Pesquisador: Rosekeila Simões Nomelini

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 34770014.4.0000.5154

Instituição Proponente: Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE MINAS GERAIS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.256.065

Apresentação do Projeto:

pesquisador solicita emenda ao projeto com as seguintes justificativas:

1. No projeto inicial, a proposta era avaliar as citocinas no soro e no líquido intracístico de pacientes com tumores de ovário. Estamos propondo estudar também as citocinas no lavado peritoneal dessas pacientes, ampliando, dessa forma, a avaliação da produção local de citocinas em neoplasias de ovário. Reforçamos que, no termo de consentimento, já era informado o ato da coleta do líquido peritoneal, então este não precisará ser modificado.
2. No projeto inicial, a proposta era avaliar as seguintes citocinas no tecido, no soro e no líquido intracístico: IL-2, IL-6, IL-10 e TNF-alfa. Estamos propondo ampliar as citocinas avaliadas nesses locais e também no líquido peritoneal, acrescentando IL-5, IL-8, IL-12, IL-17 e receptores I e II de TNF. Isso se justifica pela importância das mesmas na resposta imune das neoplasias de ovário, e avaliando-se um painel maior de citocinas, pode-se traçar um melhor perfil de fatores associados ao prognóstico em câncer de ovário.
3. Reforço, ainda, que os procedimentos para a coleta do material não serão significativamente alterados, e que no termo de consentimento inicial já estava previsto a coleta do lavado peritoneal, que é um procedimento já padronizado para qualquer cirurgia de tumor de

Endereço: Rua Madre Maria José, 122

Bairro: Nossa Sra. Abadia

CEP: 38.025-100

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3318-5776

Fax: (34)3318-5776

E-mail: cep@pesqpg.ufm.edu.br



Continuação do Parecer: 1.268.065

ovário, não aumentando nem o risco e nem o tempo cirúrgico para a paciente.

Objetivo da Pesquisa:

acrescentado:

avaliação das citocinas no lavado peritoneal e avaliação da enzima óxido nítrico sintase reduzida.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

os mesmos apresentados no projeto original

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

os mesmos apresentados no projeto original

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

apresentados

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

De acordo com a Resolução CNS nº 466 de 2012 e a Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, o colegiado do CEP em reunião de 02/10/2015 aprova a emenda do projeto.

Conforme orientações da CONEP, após a aprovação do projeto pelo CEP, o pesquisador deve notificar na plataforma Brasil o início da pesquisa, bem como apresentar relatórios parciais (semestrais) e final

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	Justificativa.pdf	30/09/2015 09:17:08	Maria José Ferreira de Sousa Covre	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_600237 E2.pdf	29/09/2015 14:51:58		Aceito
Outros	Emenda.pdf	03/07/2015 12:24:20		Aceito
Outros	GEP autorizacao_proj_de_pesquisa.pdf	25/10/2014 17:19:23		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto CEP.doc	25/10/2014 17:18:42		Aceito

Endereço: Rua Madre Maria José, 122

Bairro: Nossa Sra. Abadia

CEP: 38.025-100

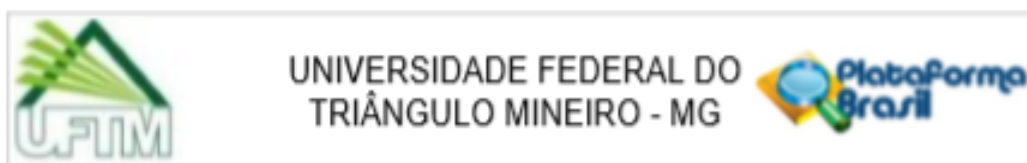
UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3316-5776

Fax: (34)3318-5776

E-mail: cep@pesqpg.uftm.edu.br



Continuação do Parecer: 1.256.065

Outros	patologia especial linha ovário.pdf	25/10/2014 17:12:02		Aceito
Outros	dra+Rosekeia+protocolo+Pj+Pesq+assisi n+15out.pdf	25/10/2014 17:09:58		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO DE CONSENTIMENTO.doc	25/10/2014 17:07:24		Aceito
Folha de Rosto	folha de rosto escaneada.pdf	13/08/2014 09:36:25		Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

UBERABA, 02 de Outubro de 2015

Assinado por:
Marly Aparecida Spadotto Balarin
(Coordenador)

Endereço: Rua Madre Maria José, 122
Bairro: Nossa Sra. Abadia **CEP:** 38.025-100
UF: MG **Município:** UBERABA
Telefone: (34)3318-5776 **Fax:** (34)3318-5776 **E-mail:** cep@pesqg.uftm.edu.br