

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO**

**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**PATOLOGIA HUMANA**

**MARCELA MOISÉS MALUF SANGUINETE**

**RELAÇÃO DE CITOCINAS SÉRICAS COM FATORES PROGNÓSTICOS EM**

**NEOPLASIAS MALIGNAS DE OVÁRIO**

**UBERABA MG**

**2017**



**MARCELA MOISÉS MALUF SANGUINETE**

**RELAÇÃO DE CITOCINAS SÉRICAS COM FATORES PROGNÓSTICOS EM  
NEOPLASIAS MALIGNAS DE OVÁRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração Patologia Humana, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Rosekeila Simões  
Nomelini

Coorientador: Prof. Dr. Eddie Fernando Candido  
Murta

**UBERABA MG**

**2017**

**MARCELA MOISÉS MALUF SANGUINETE**

**RELAÇÃO DE CITOCINAS SÉRICAS COM FATORES PROGNÓSTICOS EM  
NEOPLASIAS MALIGNAS DE OVÁRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração Patologia Humana, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Rosekeila Simões Nomelini

Coorientador: Prof. Dr. Eddie Fernando Candido Murta

16 de Maio de 2017

Banca Examinadora:

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Rosekeila Simões Nomelini (Orientadora)

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof. Dr. Hélio Humberto Angotti Carrara

Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Renata Margarida Etchebehere

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Dedico este trabalho à minha família: pelo amor incondicional, pelo incentivo e apoio constantes, primordiais em minha vida sempre.

## **AGRADEÇO**

**A Deus**, pela vida, por estar sempre comigo, guiando-me e iluminando-me em meus pensamentos e escolhas, dando-me força, perseverança e proteção sempre. Sem a fé, nada eu seria. *“A força mais potente do universo é a fé” – Madre Teresa de Calcutá.*

**Ao meu amado esposo Marcos Sanguinete Alencar Souza**, por todo amor, companheirismo, generosidade, compreensão, carinho, por ser meu maior incentivo e porto seguro. Sua admiração, seu estímulo e apoio são essenciais em minha vida, sempre.

**Aos meus amados pais, Gontran Maluf Filho e Cláudia Moisés Maluf**, pelo amor incondicional, pelos grandes ensinamentos, por serem meus maiores exemplos, pelo carinho e cuidado durante toda a minha vida. Cada conquista minha é também de vocês, pois é fruto de seus ensinamentos de honra, honestidade, disciplina, educação, amor e fé. Minha gratidão e amor incondicional são eternos.

**Aos meus irmãos, Mateus Moisés Maluf e Mariana Moisés Maluf**, por todo amor e apoio, pelo companheirismo desde os primeiros dias de vida, por serem meus maiores e melhores amigos, sempre.

**Ao meu querido tio e eterno professor, Dr. Paulo José Maluf**, meu maior exemplo e referência profissional, pela generosidade em toda a sabedoria transmitida, pelo carinho e cuidado, por cada ensinamento, pelo incentivo e apoio constantes.

**A todos os amados familiares**, avós, tios, primos, a minha querida sogra, cunhados e sobrinho, pelas orações e carinho, pela união, compreensão e pelos momentos de grande alegria.

**À professora Dra. Rosekeila Simões Nomelini**, pela orientação, disponibilidade e auxílio durante toda a confecção deste trabalho; pela disposição constante em ensinar, pelo incentivo à pesquisa, pela amizade sincera e por transmitir sua imensa sabedoria com carinho e atenção. Minha admiração e gratidão são eternas.

**Ao professor Dr. Eddie Fernando Cândido Murta**, pela coorientação deste trabalho, por sua cordialidade e sabedoria transmitida, pela seriedade e profissionalismo sempre destacados.

**A todos meus amigos da pós-graduação**, em especial à **Millena Prata Jammal**, **Agrinaldo Martins Filho** e **Cid Almeida de Lima**, pelo enorme auxílio e apoio durante todas as etapas deste trabalho, pela amizade e pelo companheirismo.

**A todos os residentes de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM**, em especial à **Paula Honório de Oliveira**, pelo auxílio na coleta de dados e colaboração na construção deste trabalho.

**A equipe da Disciplina de Ginecologia e Obstetrícia da UFTM**, em especial à **Andrea Carneiro Bevilaqua Pinheiro**, **Maria da Fátima Paiva** e **Simone Quintino Veloso Mendes**, pelo incentivo constante, pela alegria, amizade e carinho sempre.

**Aos meus alunos e ex-alunos**, pelo despertar do amor pela docência, e **aos meus pacientes**, motivadores de estudos constantes.

**À professora Dra. Beatriz Martins Tavares Murta**, pela disponibilização, sem reservas, de todos os recursos da Disciplina de Farmacologia.

**Ao Douglas Cobo Micheli e a equipe da Farmacologia** pela participação direta no armazenamento e processamento das amostras.

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (**CNPq**), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**), à Fundação de Ensino e Pesquisa de Uberaba (**FUNEPU**) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (**FAPEMIG**), pelo apoio financeiro.

## **RESUMO**



**INTRODUÇÃO:** O câncer de ovário é uma doença de origem multifatorial, com difícil diagnóstico precoce. Tem evolução insidiosa, com sintomatologia tardia, o que leva ao atraso de diagnóstico e tratamento, diminuindo as possibilidades terapêuticas. Existem diferenças no microambiente tumoral entre neoplasias benignas, malignas e tumores não neoplásicos, sugerindo um papel das citocinas na progressão tumoral. Não há estudos quanto à produção local e sistêmica de citocinas em relação aos diversos fatores prognósticos em um mesmo grupo de pacientes. Há necessidade de pesquisa de novos métodos para detecção precoce de lesões neoplásicas malignas, novos fatores prognósticos e estratégias terapêuticas.

**OBJETIVOS:** Relacionar a dosagem de citocinas do perfil TH1 (IL-2, IL-8, e TNF- $\alpha$ ) e do perfil TH2 (IL-5, IL-6 e IL-10) no plasma com fatores prognósticos clínicos, laboratoriais e patológicos de pacientes com neoplasia maligna primária do ovário.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Foram avaliadas 30 pacientes com diagnóstico de neoplasia maligna do ovário, atendidas no Ambulatório de Massa Pélvica da Disciplina de Ginecologia e Obstetrícia/Instituto de Pesquisa em Oncologia (IPON) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM com indicação cirúrgica de acordo com critérios pré-estabelecidos. Realizou-se a coleta de soro pré-operatório para a dosagem de marcadores tumorais. Foram incluídas no estudo as pacientes com diagnóstico confirmado de neoplasia maligna de ovário (n=30). Os critérios de exclusão foram torção do pedículo anexial, neoplasia maligna secundária de ovário (metástase), tratamento antineoplásico prévio; doenças imunossupressoras; e recidiva. Foi realizado ELISA para avaliação de citocinas do perfil TH1 (IL-2, IL-8, e TNF- $\alpha$ ) e do perfil TH2 (IL-5, IL-6 e IL-10). Avaliou-se a idade das pacientes, o tipo e o grau histológico, estadiamento, classificação do câncer de ovário em tipo I ou II, sobrevida livre de doença, sobrevida global, marcadores tumorais (CA 125, CA 19.9,

CA 15.3, CEA,  $\alpha$ -feto-proteína,  $\beta$ -hCG, estradiol e testosterona), relação neutrófilo-linfócito (RNL), relação plaqueta-linfócito (RPL), níveis de hemoglobina e níveis séricos das citocinas.

**RESULTADOS:** Avaliando-se a IL-6, observou-se que níveis séricos mais elevados associaram-se à sobrevida global menor que 60 meses ( $p=0.0382$ ). Na avaliação da IL-8, níveis séricos mais elevados associaram-se à relação neutrófilo-linfócito $\geq 4$  e relação plaqueta-linfócito $\geq 200$  ( $p=0.0198$  e  $p=0.0072$ , respectivamente), a valores alterados de CA125 sérico ( $p=0.0457$ ) e a estádio IIIC ( $p=0.0486$ ).

**CONCLUSÃO:** Há relação entre o aumento de citocinas e fatores de pior prognóstico em câncer de ovário, em especial IL-6 e IL-8. Novos estudos com maior amostra de pacientes são necessários para se confirmar o papel das citocinas como fatores prognósticos, na definição de tratamento e na perspectiva de futuras terapias-alvo.

**Palavras-chave:** Câncer de ovário, citocinas, fatores prognósticos.

## **ABSTRACT**

**INTRODUCTION:** Ovarian cancer is a disease of multifactorial origin with difficult early diagnosis. It has an insidious evolution, with late symptomatology, which leads to delayed diagnosis and treatment, reducing therapeutic possibilities. There are differences in the tumor micro-environment between benign, malignant and non-neoplastic tumors, suggesting a role of cytokines in tumor progression. There are no studies on the local and systemic production of cytokines in relation to the various prognostic factors in the same group of patients.

**OBJECTIVES:** The aims were to relate cytokines serum levels (TH1 standard: IL-2, IL-8, and TNF- $\alpha$ , TH2 standard: IL-5, IL-6 and IL-10) with clinical, laboratory and pathological prognostic factors in patients with primary malignant ovarian neoplasia.

**MATERIALS AND METHODS:** Patients (n=30) of the Pelvic Mass Ambulatory of the Discipline of Gynecology and Obstetrics / Oncology Research Institute (IPON) of the Federal University of the Triângulo Mineiro - UFTM with surgical indication according to pre-established criteria were evaluated. There will be collection of preoperative serum for the dosage of tumor markers. Patients with a confirmed diagnosis of malignant epithelial ovarian neoplasia (n = 30) were included. Exclusion criteria were torsion of the adnexal pedicle, secondary malignant ovarian neoplasia (metastasis), previous antineoplastic treatment; malignant germ cell malignancies or sexual ovarian cords neoplasms; immunosuppressive diseases; and relapse. ELISA for TH1 standard cytokines: IL-2, IL-8, and TNF- $\alpha$ , and TH2 standard: IL-5, IL-6 and IL-10 was performed. The age, type and histological grade, staging, lymph node metastasis, classification in type I and II of ovarian cancer, disease-free survival, overall survival, tumor markers, neutrophil-lymphocyte ratio (RNL), platelet-lymphocyte

ratio (PLR), hemoglobin levels, tumor markers (CA 125, CA 15.3 and CA 19.9) levels, and serum cytokine levels were evaluated.

**RESULTS:** When evaluating IL-6, it was observed that higher serum levels were associated with overall survival less than 60 months ( $p = 0.0382$ ). In the evaluation of IL-8, higher serum levels were associated with  $RNL \geq 4$  and  $RPL \geq 200$  ( $p = 0.0198$  and  $= 0.0072$ , respectively), altered values of serum CA125 ( $p = 0.0457$ ), and stage IIIc ( $p = 0.0486$ ).

**CONCLUSION:** There is a relation of the increase of cytokines with factors of worse prognosis in ovarian cancer, especially IL-6 and IL-8. Further studies with a larger sample of patients are needed to confirm the role of cytokines as prognostic factors and in the definition of treatment and in the perspective of future target therapies.

**Keywords:** Ovarian cancer, cytokines, prognostic factors.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Figura 1** – Relação de IL-2 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney).

**Figura 2** – Relação de IL-5 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney).

**Figura 3** – Relação de IL-6 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney; \* $p=0.0382$  comparado com SG > 60 meses).

**Figura 4** – Relação de IL-8 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney; \* $p=0.0486$  comparado com estadiamentos I-IIIB).

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

**Figura 6** – Relação de TNF-alfa (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney; \* $p = 0,0926$  comparado com SG > 60 meses).

**Figura 7** – Relação de IL-2 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney).

**Figura 8** – Relação de IL-5 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney).

**Figura 9** – Relação de IL-6 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney; \*p=0.0976 comparado com CA125≤ 35).

**Figura 10** – Relação de IL-8 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney; \*p=0.0198 comparado com RNL≤ 4; \*\*p=0.0072 comparado com RPL≤ 200; \*\*\*p=0.0457 comparado com CA125≤ 35).

**Figura 11** – Relação de IL-10 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney; \*p=0.0684 comparado com RNL≤ 4; \*\*p=0.0642 comparado com RPL≤ 200).

**Figura 12** – Relação de TNF-alfa (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney).

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Classificação histológica dos tumores ovarianos. Adaptado de World Health Organization Classification of Tumours, 2003 (TAVASSOLI, DEVILEE, 2003).

**Tabela 2** - Estadiamento cirúrgico do câncer ovariano. \*Adaptado de The new FIGO staging system for ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer (ZEPPERNICK, MEINHOLD-HEERLEIN, 2014).

**Tabela 3** – Relação das citocinas (mediana, mínimo e máximo) e fatores prognósticos patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário.

**Tabela 4** – Relação das citocinas (mediana, mínimo e máximo) e fatores prognósticos laboratoriais em neoplasias malignas de ovário.



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ABNT** – Associação Brasileira de Normas Técnicas

**ACS** – American Cancer Society

**BRCA1** – Gene supressor de tumor *breast cancer 1*

**BRCA2** – Gene supressor de tumor *breast cancer 2*

**CA- 19.9** – Antígeno do câncer 19.9

**CA125** – Antígeno do câncer 125

**CA-15.3** – Antígeno do câncer 19.9

**CEA** – Antígeno carcinoembrionário

**ELISA** – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

**Fig** – Figura

**FIGO** – Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia

**FoxP3+** - Forkhead box P3

**G1** – Grau 1

**G2** – Grau 2

**G3** – Grau 3

**HCl** – Ácido Clorídrico

**HRP** – Estreptavidina conjugada com peroxidase

**IL** – Interleucina

**IL-10** – Interleucina 10

**IL-2** – Interleucina 2

**IL-5** – Interleucina 5

**IL-6** – Interleucina 6

**IL-8** – Interleucina 8

**INCA** – Instituto Nacional de Combate ao Câncer

**IFN- $\gamma$**  – Interferon gama

**IPON** – Instituto de Pesquisa em Oncologia

**n** – número

**pg/ml** – Picogramas por mililitros

**RNL** – Relação Neutrófilo sobre Linfócito

**RPL** – Relação Plaqueta sobre Linfócito

**sTNF-R1** – Receptor solúvel R1 do fator de necrose tumoral

**sTNR-R2** – Receptor solúvel R2 do fator de necrose tumoral

**Tab** – Tabela

**TH1** – T Helper 1

**TH2** – T Helper 2

**TMB** – Tetrametilbenzidina

**TNF-R** – Receptor do fator de necrose tumoral

**TNF-R1** – Receptor R1 do fator de necrose tumoral

**TNF- $\alpha$**  – Fator de necrose tumoral alfa

**TNR-R2** – Receptor R2 do fator de necrose tumoral

**TP53** – Tumor Protein 53 (gene p53)

**Tregs** – Células T regulatórias

**Tu** – Tumor

**UFTM** – Universidade Federal do Triângulo Mineiro

## Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>21</b>
<b>1.1 OVÁRIO</b> .....	<b>22</b>
<b>1.2 CÂNCER DE OVÁRIO</b> .....	<b>23</b>
<b>1.3 CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DO CÂNCER DE OVÁRIO</b> .....	<b>24</b>
<b>1.4 FATORES DE RISCO E PROTETORES DO CÂNCER DE OVÁRIO</b> .....	<b>25</b>
<b>1.5 MARCADORES TUMORAIS E EXAMES COMPLEMENTARES</b> .....	<b>27</b>
<b>1.6 ESTADIAMENTO DO CÂNCER DE OVÁRIO</b> .....	<b>29</b>
<b>1.7 CÂNCER DE OVÁRIO E CITOCINAS</b> .....	<b>30</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>36</b>
<b>3 HIPÓTESE</b> .....	<b>38</b>
<b>4 OBJETIVOS</b> .....	<b>40</b>
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>42</b>
<b>5.1 PACIENTES</b> .....	<b>43</b>
5.1.1 Critérios De Indicação De Laparotomia Exploradora .....	43
5.1.2 Critérios para coleta de soro e avaliação de citocinas .....	43

5.1.3 Critérios De Inclusão .....	44
5.1.4 Critérios De Exclusão .....	44
5.1.5 Dados Analisados .....	44
<b>5.2 MÉTODOS.....</b>	<b>46</b>
5.2.1 Estudo Anátomo-Patológico.....	46
5.2.2 Coleta do Soro .....	46
5.2.3 ELISA .....	47
5.2.4 Análise Estatística .....	48
5.2.5 Redação do Texto .....	48
<b>6 RESULTADOS .....</b>	<b>49</b>
<b>7 DISCUSSÃO.....</b>	<b>66</b>
<b>8 CONCLUSÃO .....</b>	<b>73</b>
<b>9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>75</b>
<b>10 ANEXOS.....</b>	<b>87</b>
<i>10.1 ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO .....</i>	<i>88</i>
<i>10.2 ANEXO B – Aprovação pelo CEP .....</i>	<i>89</i>

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25

**1 INTRODUÇÃO**

## 1 1.1 O OVÁRIO

2

3 Os ovários são estruturas intraperitoneais, sólidas, de cor branca-rósea, que apresentam  
4 superfície lisa até a puberdade, tornando-se rugosa à medida que as ovulações ocorrem. Na  
5 menopausa, apresenta-se enrugados. Na mulher nulípara, ocupam a fossa ovárica (fossa de  
6 Waldeyer), que corresponde a uma fossa peritoneal de formato triangular, limitada pela artéria  
7 ilíaca interna, pelo ureter e pela inserção do ligamento largo na parede lateral da cavidade  
8 pélvica. Aí se situa graças à suspensão pelos ligamentos suspensores dos ovários  
9 (infundíbulo-pélvico), ligamento próprio do ovário (útero-ovárico) e ligamento de  
10 coadaptação (entre a extremidade tubária do ovário e infundíbulo da tuba uterina). Após o  
11 parto, há um estiramento ligamentar, o que justifica a posição mais baixa na cavidade pélvica  
12 após esse evento (MOORE, 2001).

13 Anatomicamente, o ovário é dividido em três regiões: córtex, medula e hilo. O córtex  
14 é a camada mais externa, onde há o epitélio germinal que origina os folículos. A medula é a  
15 camada central de estroma de tecido conjuntivo frouxo, com fibras elásticas, fibras  
16 musculares lisas e vasos espiralados. O hilo (*rete ovarii*) é a zona de união do ovário ao  
17 mesovário, onde se inserem as fibras nervosas e os vasos sanguíneos. A vascularização  
18 arterial é feita pelas artérias ovarianas, ramos da aorta abdominal, que transitam pelos  
19 ligamentos infundíbulos-pélvicos. A circulação venosa se faz pelo plexo pampiniforme que  
20 drena para veias ovarianas e daí para veia cava inferior à direita e veia renal à esquerda  
21 (MOORE, 2001).

22

23

24

## 1 1.2 CÂNCER DE OVÁRIO

2

3 O câncer é um grave problema de saúde em todo o mundo e uma das causas mais  
4 importantes de morbidade e mortalidade em crianças e adultos. A letalidade dos tumores  
5 malignos deve-se ao seu crescimento descontrolado dentro dos tecidos normais, causando  
6 danos e prejuízos funcionais. O fenótipo maligno dos cânceres reflete defeitos na regulação da  
7 proliferação celular, resistência das células tumorais à morte apoptótica, capacidade das  
8 células tumorais de invadir os tecidos do hospedeiro e formar metástases para locais distantes  
9 e evasão tumoral dos mecanismos de defesa imune. A possibilidade de que os cânceres  
10 possam ser erradicados pelas respostas imunológicas específicas tem sido impulso para uma  
11 grande quantidade de trabalhos na área da imunologia tumoral (ABBAS, LITCHMAN,  
12 PILLAI, 2015).

13 O câncer de ovário pode ser considerado uma doença de origem multifatorial, com  
14 difícil diagnóstico precoce. Por ter evolução insidiosa, a sintomatologia é tardia, pois acontece  
15 quando a doença encontra-se em estadiamento avançado. Esta característica leva ao atraso de  
16 diagnóstico e tratamento, o que diminui as possibilidades e respostas terapêuticas. Este fato  
17 explica a baixa sobrevida nos estadiamentos avançados III e IV (Federação Internacional de  
18 Ginecologia e Obstetrícia - FIGO), sendo 34% e 18% respectivamente (Instituto Nacional do  
19 Câncer dos Estados Unidos, 2016). Nos casos de diagnóstico na fase inicial (estadiamento I  
20 pela FIGO), a sobrevida é próxima a 90% (Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos,  
21 2016).

22 De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), estimam-se, para o ano de 2016,  
23 6.150 casos novos de câncer do ovário para o Brasil, com um risco estimado de 5,95 casos a  
24 cada 100 mil mulheres. Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer do ovário  
25 é o quinto mais incidente na Região Centro-Oeste, com um risco estimado de 6,96/100 mil.

1 Nas Regiões Sudeste (6,76/100 mil), Sul (6,71/100 mil) e Nordeste (4,93/100 mil), ocupa a  
2 sétima posição. Na Região Norte (2,92/100 mil), ocupa a oitava posição (INCA, 2016).

3 De acordo com American Cancer Society (ACS), nos Estados Unidos, em 2017, estão  
4 previstos 22.440 casos novos de neoplasia maligna de ovário, e 14.080 mortes por esta  
5 doença. Neste país, o câncer de ovário é considerado a quinta causa de morte por câncer nas  
6 mulheres, sendo o maior índice se comparado a outras neoplasias ginecológicas. O risco de  
7 uma mulher desenvolver câncer de ovário é de 1/75 durante sua vida, e a chance de morrer  
8 devido a essa doença é de 1/100. Este câncer é mais comum em mulheres mais velhas, sendo  
9 63 anos a idade média do diagnóstico. É mais comum nas mulheres brancas. A incidência  
10 desse tipo de neoplasia está apresentando declínio nos últimos 20 anos (SIEGEL et al., 2017).

11

12

13

### 14 **1.3 CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA DO CÂNCER DE OVÁRIO**

15

16 As neoplasias malignas de ovário podem ser classificadas por seu tipo histológico  
17 (Tabela 1). Os tumores de origem epitelial são os mais frequentes, sendo responsáveis por  
18 mais de 90% dos casos. As neoplasias malignas epiteliais têm origem no mesotélio celômico  
19 embrionário presente na superfície ovariana, através da formação de um cisto no interior da  
20 cápsula ovárica. Este cisto apresenta crescimento por período indeterminado antes de ter  
21 capacidade de formação de metástases (PIVER, BARLOW, LELE, 1978; RUBIN, 1992;  
22 MURTA, ANDRADE, BIGHETTI, 1995). As formas de disseminação do câncer de ovário  
23 são por continuidade (atingindo órgãos adjacentes), e envio de células tumorais por via  
24 linfática, hematogênica e por esfoliação. Por via de esfoliação, células neoplásicas oriundas da  
25 superfície ovariana são levadas por movimentos de peristaltismo e diafragmáticos por toda



1 cavidade peritoneal (FELDMAN & KNAPP, 1974). A disseminação linfática é frequente, ao  
2 contrário da hematogênica.

3

#### 4 **1.4 FATORES DE RISCO E PROTETORES DO CÂNCER DE OVÁRIO**

5

6 Em 1971, foi proposto por Fathalla a ocorrência de alterações genéticas na superfície  
7 epitelial ovariana em resposta a incessantes ovulações que levam a microtraumas e lesões de  
8 repetição. As mitoses sucessivas podem causar mutagênese seguida de carcinogênese.  
9 Casagrande et al. (1979) relacionaram o risco de desenvolver câncer de ovário e o número de  
10 ovulações. Períodos de anovulação são considerados fatores protetores. Portanto, considera-se  
11 gravidez, multiparidade, uso de anovulatórios, amamentação, menarca tardia e menopausa  
12 precoce fatores de proteção contra as neoplasias malignas epiteliais ovarianas. Da mesma  
13 forma, períodos de exposição a ovulações são considerados fatores de risco para  
14 desenvolvimento do carcinoma epitelial ovariano. São exemplos a nuliparidade, menarca  
15 precoce e menopausa tardia (WHITTEMORE et al., 1992; TUNG et al., 2005).

16 Existem também fatores genéticos envolvidos na carcinogênese ovariana. Cerca de 10%  
17 dos tumores ovarianos tem componente genético ou familiar. O fato de haver um caso na  
18 família é o fator de risco isolado mais importante. Alterações genéticas como deleções de  
19 genes supressores BRCA1 e BRCA2 e a Síndrome de Lynch II (mutação dos genes MSH2 ou  
20 MLH1) estão associadas ao aumento do risco do câncer de ovário hereditário (CANNISTRA  
21 et al., 2004).

22 Estudos de genética molecular dividiram o câncer epitelial de ovário em dois grupos:  
23 tipo I e tipo II. Tumores tipo I são mais indolentes, têm genoma estável e não têm mutações  
24 de TP53. Tumores tipo II são mais agressivos e geneticamente instáveis, a maioria apresenta  
25 mutações de TP53, e quase metade dos casos apresenta mutação, hipermetilação ou disfunção

1 de BRCA 1 e 2 sendo responsáveis por cerca de 90% das mortes por essa doença (KURMAN,  
2 SHIH, 2010; KURMAN, SHIH, 2011; ALI-FEHMI et al., 2011).

3 O diagnóstico da neoplasia ovariana é feito, em sua maioria, tardiamente. Isso ocorre  
4 porque não existem exames efetivos para prevenção ou para rastreio. Indica-se investigação  
5 complementar quando existe alteração notável ao exame físico (massa anexial palpável) ou  
6 quando a paciente refere sintomas sugestivos, porém inespecíficos (dor pélvica, aumento do  
7 volume abdominal, etc). Porém, a especificidade e a sensibilidade do exame ginecológico  
8 para neoplasia ovariana são questionáveis, já que somente nota-se alteração ao toque  
9 bimanual vaginal quando a região anexial apresenta volume maior que 65 cm<sup>3</sup> (MURTA, et  
10 al., 2004; PADILLA, RADOSEVICH, MILAD, 2005).

11

12 Tabela 1 – Classificação histológica dos tumores ovarianos. Adaptado de World Health  
13 Organization Classification of Tumours, 2003 (TAVASSOLI, DEVILEE, 2003).

<b>Tumores ovarianos</b>		
<b>Tumores da superfície epitelial-estromal</b>	<b>Tumores dos cordões sexuais- estromais</b>	<b>Tumores das células germinativas</b>
Tumores Serosos	Tumor de células da Granulosa	Disgerminoma
Tumores Mucinosos	Tumor de células de Sertoli- Leydig	Coriocarcinoma
Tumores Endometrioides	Tumor de células Esteroidais	Carcinoma embrionário
Tumor de Células Claras		Teratoma Imaturo
Tumor de Células Transicionais		Tumor do seio endodérmico
Tumor indiferenciado		

## 1 1.5 MARCADORES TUMORAIS E EXAMES COMPLEMENTARES

2

3 Marcadores tumorais também são utilizados para investigação etiológica de massas  
4 anexiais, e também para controle e prognóstico. Os marcadores de Antígeno do Câncer (CA)  
5 CA 125, CA 15.3, CA 19.9 e o Antígeno Carcinoembrionário (CEA) apresentam positividade  
6 alta no soro e no líquido intracístico de lesões ovarianas epiteliais malignas (CHERCHI et al.,  
7 2002; TAVARES-MURTA et al., 2004). A dosagem de  $\beta$ -hCG,  $\alpha$ -fetoproteína, estradiol e  
8 testosterona como marcadores tumorais também é utilizada durante a avaliação de lesões  
9 ovarianas, e podem estar em níveis elevados em tumores dos cordões sexuais-estromais e em  
10 tumores de células germinativas (STURGEON, 2002).

11 O exame de imagem mais indicado para avaliação morfológica da lesão ovariana é a  
12 ultrassonografia com Doppler. Os aspectos encontrados são classificados por suas  
13 características, podendo ser sugestivos de malignidade quando apresentam áreas sólidas,  
14 cápsula e septos espessos ou vegetações em seu interior. O estudo Doppler é importante para  
15 avaliar o índice de resistência ao fluxo sanguíneo. Achados como índice de resistência inferior  
16 a 0,4 e índice de pulsatilidade inferior a 1,0 são preditores de malignidade (GUERRIERO et  
17 al., 2004; SZPUREK et al., 2005).

18 Na literatura, existem várias publicações com o objetivo de estimar a probabilidade de  
19 malignidade das massas anexiais. Dentre esses estudos, um de grande destaque é o do grupo  
20 IOTA (International Ovarian Tumor Analysis). Este grupo descreve critérios de acordo com  
21 os achados ultrassonográficos, para sugestão de benignidade ou malignidade de uma lesão  
22 ovariana. Essa classificação é amplamente utilizada no mundo, por ser bem fundamentada e  
23 bastante clara. De acordo com IOTA, são critérios de malignidade (M): tumor sólido  
24 irregular, presença de ascite, pelo menos quatro estruturas papilares, tumor multilocular com  
25 componente sólido e diâmetro maior que 100 mm, vascularização intensa; são critérios de

1 benignidade (B): unilocular, presença de componente sólido menor que 7mm, presença de  
2 sombra acústica posterior, tumor multilocular regular com diâmetro menor que 100mm,  
3 ausência de fluxo ao Doppler. Se o tumor apresentar pelo menos uma característica M e  
4 nenhuma característica B, será provavelmente maligno. Caso apresente uma ou mais  
5 características B e nenhuma característica M, o tumor será provavelmente benigno. Se o  
6 tumor apresentar características B e M, ou não apresentar nenhuma característica B ou M, o  
7 resultado será inconclusivo (TIMMERMAN et al., 2008).

8 A associação entre exame físico, ultrassonografia e dosagem de marcadores tumorais é  
9 utilizada para a busca da etiologia de lesões ovarianas (MURTA et al., 2004). Porém,  
10 apresenta limitações na diferenciação entre lesões benignas e malignas.

11 A neoplasia ovariana apresenta-se como um desafio, pois apesar dos avanços, a  
12 sobrevida das pacientes não se alterou significativamente. Isso ocorre principalmente devido à  
13 demora no diagnóstico. Há necessidade de padronização de novos métodos para detecção  
14 precoce de lesões neoplásicas malignas, e estudos vêm sendo feitos para isto.

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

## 1 1.6 ESTADIAMENTO DO CÂNCER DE OVÁRIO

2 A Tabela 2 mostra o estadiamento do câncer de ovário.

3

4 Tabela 2 - Estadiamento cirúrgico do câncer ovariano. \*Adaptado de The new FIGO staging  
5 system for ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer (ZEPPERINICK,  
6 MEINHOLD-HEERLEIN, 2014).

---

### Estádio I – Tumor limitado aos ovários ou Trompa(s) de Falópio<sup>a</sup>

Estádio IA: Tumor limitado a um ovário ou Trompa(s) de Falópio, não há células malignas na ascite ou lavado peritoneal. Sem tumor na superfície do ovário ou Trompa(s) de Falópio, com cápsula intacta.

Estádio IB: Tumor limitado aos dois ovários ou Trompas de Falópio, não há células malignas na ascite ou lavado peritoneal. Sem tumor na superfície dos ovários ou Trompas de Falópio, com cápsula intacta.

Estádio IC: Tumor limitado a um ou ambos os ovários ou Trompa(s) de Falópio, com alguma das alterações:

IC1: Rompimento cirúrgico intra-operatório do tumor

IC2: Cápsula rota antes da cirurgia ou na superfície ovariana ou da Trompa(s) de Falópio

IC3: Células malignas na ascite ou lavado peritoneal

---

### Estádio II – Tumor envolvendo um ou ambos os ovários ou Trompas de Falópio com extensão pélvica (abaixo cavidade pélvica) ou câncer peritoneal primário<sup>b</sup>

Estádio IIA: Extensão e/ou metástase para útero e/ou Trompa(s) de Falópio e/ou Trompa(s) de Falópio e/ou ovários

Estádio IIB: Extensão para outros tecidos intraperitoneais pélvicos.

---

---

Estádio III – Tumor envolvendo um ou ambos os ovários ou Trompas de Falópio, ou câncer peritoneal, confirmação histológica ou citológica de propagação para o peritônio fora da pelve e/ou metástase para os linfonodos retroperitoneais

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

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

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

Estádio IIIA2: Envolvimento peritoneal microscópico extra-pélvico (acima da cavidade pélvica), com ou sem linfonodos retroperitoneais positivos

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

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

---

Estádio IV – Metástases à distância excluindo metástases peritoneais

Estádio IVA: O derrame pleural com citologia positiva

Estádio IVB: Metástases para o parênquima e metástases para órgãos extra-abdominais (incluindo linfonodos inguinais e linfonodos fora da cavidade abdominal)<sup>c</sup>

---

1 <sup>a</sup>Não é possível ter o câncer peritoneal no estágio I

2 <sup>b</sup>Aderências densas com células tumorais comprovadas histologicamente justificam a

3 atualização de tumores do Estágio 1 para Estágio II.

1 °Metástases extra-abdominais incluem infiltração intestinal transmural e  
2 depósito umbilical

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

6

7

## 8 **1.7 CÂNCER DE OVÁRIO E CITOCINAS**

9

10 As neoplasias consistem em uma complexa interação entre as células tumorais e o  
11 sistema imune. A resposta do sistema imune poderá acarretar em inibição do desenvolvimento  
12 tumoral, porém também poderá promover o quadro, através da angiogênese e crescimento  
13 neoplásico associado à inflamação. A inflamação crônica é comprovadamente um fator de  
14 risco para o desenvolvimento tumoral. Durante o estímulo inflamatório, células como as  
15 imune inatas, macrófagos, *natural killers*, células dendríticas, neutrófilos e mastócitos são  
16 recrutados e ativados, sendo liberadas citocinas e quimiocinas (MATIAS et al., 2013).

17 As citocinas constituem um grande grupo de proteínas secretadas com diversas  
18 estruturas e funções, que regulam e coordenam muitas atividades das células da imunidade  
19 inata e adaptativa. Entre as funções das citocinas, estão o crescimento e diferenciação celular  
20 imune, ativação de funções efetores dos linfócitos e fagócitos e migração de células imunes  
21 para os tecidos (ABBAS, LITCHMAN, PILLAI, 2015).

22 A relação das citocinas e quimiocinas com o desenvolvimento tumoral foi identificada  
23 em vários estudos e pesquisas nos últimos anos. No câncer de ovário, algumas citocinas  
24 regulam a proliferação e sobrevivência das células neoplásicas, a angiogênese e metástases.

1 Apresentam ação autócrina no microambiente tumoral (BARBIERI, BAJETTO, FLORIO,  
2 2010). São identificados leucócitos em tecidos neoplásicos, especialmente macrófagos e  
3 linfócitos. Essas células são produtoras de citocinas, que aumentam proporcionalmente ao  
4 desenvolvimento tumoral. Com a elevação desses mediadores, há um ambiente propício ao  
5 desenvolvimento neoplásico, além de contribuir para metástases (ABBAS, LITCHMAN,  
6 PILLAI, 2015).

7 O organismo apresenta reação antitumoral através da resposta imune mediada por  
8 células imunes inatas. Há formação de uma resposta imune adaptativa, com participação de  
9 linfócitos T e B, e liberação de imunomediadores pró e anti-inflamatórios (MATIAS et al.,  
10 2013).

11 Ao identificar a relação entre as citocinas e a neoplasia de ovário, poderá ser possível  
12 a imunoterapia com esses imunomediadores como alvos terapêuticos. Porém, ainda são  
13 necessárias mais pesquisas sobre o perfil imune do tumor ovariano (REZAEIFARD et al.,  
14 2015).

15 A produção das citocinas ocorre em diversas células, entre elas os linfócitos e  
16 macrófagos ativados, células endoteliais, epiteliais e tecido conjuntivo. São sintetizadas de  
17 forma transitória e regular, durante respostas imunes e/ou inflamatórias, e agem na modulação  
18 da função celular. Dessa forma, exercem importantes ações na inflamação aguda e crônica  
19 (ROBBINS, COTRAN, 2012).

20 Como as citocinas atuam sobre diferentes células, são consideradas proteínas  
21 pleotrópicas. Podem ter ações reguladoras positivas ou negativas, de acordo com a ligação em  
22 receptores específicos nas células alvo. Para algumas células responsivas, as citocinas  
23 estimulam a proliferação celular, atuando como fatores de crescimento tradicionais. Suas



1 diversas funções demonstram a importância do microambiente na execução de determinada  
2 ação mediadora pelas citocinas (ROBBINS, COTRAN, 2012).

3 As citocinas podem ser classificadas, de acordo com suas funções, em cinco diferentes  
4 grupos: 1- Citocinas que regulam a função dos linfócitos: interleucinas (IL) 2, 5 e 10; a IL-2 e  
5 IL-5 favorecem o crescimento dos linfócitos e a IL-10 é um regulador negativo das respostas  
6 imunes; 2- Citocinas envolvidas na imunidade natural: Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ),  
7 IL-6; 3- Citocinas que ativam células inflamatórias: TNF- $\alpha$ , IL-5 e IL-10; 4- Quimiocinas (IL-  
8 8) e 5-Citocinas que estimulam a hematopoese (ROBBINS, COTRAN, 2012).

9 As interleucinas (IL) são citocinas sintetizadas por células hematopoiéticas, e atuam  
10 primariamente sobre os leucócitos. O TNF- $\alpha$  é um fator de crescimento que atua como  
11 citocina, assim como muitas citocinas podem promover o crescimento celular (ROBBINS,  
12 COTRAN, 2012).

13 O TNF é uma citocina mediadora de resposta inflamatória aguda. Tem essa  
14 denominação devido à sua ação inflamatória e trombótica em vasos neoplásicos, resultando  
15 em necrose tumoral. Sua síntese é efetivada por macrófagos, células dendríticas e outros tipos  
16 celulares, após estímulo por endotoxinas, imunocomplexos, toxinas, lesões teciduais e/ou  
17 inflamação (ROBBINS, COTRAN, 2012; ABBAS, LITCHMAN, PILLAI, 2015).

18 A atuação do TNF ocorre sobre as mesmas células que o produzem (ação autócrina),  
19 sobre as células da vizinhança imediata (ação parácrina), ou sistemicamente (ação endócrina).  
20 Conjuntamente a IL-6, apresenta importante função na indução de reações de fase aguda  
21 sistêmicas, com repercussões em endotélio, leucócitos e fibroblastos (ROBBINS, COTRAN,  
22 2012).

1           A IL-2 é uma citocina que promove a proliferação de células T específicas para  
2 antígeno por expansão clonal. Para isso, realiza a ativação de vias que podem estar envolvidas  
3 na transcrição gênica e estimulação de crescimento (ABBAS, LITCHMAN, PILLAI, 2015).

4           A IL-2 é um fator de crescimento, sobrevivência e diferenciação de linfócitos T, e  
5 desempenha um papel importante na indução de respostas das células T e no controle das  
6 respostas imunes. Em virtude dessa capacidade, a IL-2 foi originalmente chamada de fator de  
7 crescimento de células T (TCGF), e atua de forma autócrina ou parácrina. Tem sido  
8 demonstrada também a ação da IL-2 na proliferação e diferenciação das células *Natural*  
9 *Killers* e das células B *in vitro* (ABBAS, LITCHMAN, PILLAI, 2015).

10           A administração de altas doses de IL-2 por via endovenosa já é aprovada como  
11 tratamento oncológico em quadros de melanoma avançado e carcinoma de células renais.  
12 Nessas neoplasias, a resposta mensurável de regressão tumoral foi de cerca de 10%. Porém, o  
13 seu uso ainda é limitado, pois a IL-2 apresenta um efeito tóxico ao estimular a produção  
14 exacerbada de citocinas pró-inflamatórias, como TNF e Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Esses  
15 mediadores, em níveis tóxicos, atuam no endotélio vascular e em outras células  
16 desencadeando uma síndrome de permeabilidade vascular grave (ABBAS, LITCHMAN,  
17 PILLAI, 2015).

18           A IL-5 é uma citocina ativadora de eosinófilos e é o maior vínculo entre a ativação de  
19 linfócitos T e a inflamação eosinofílica. Esse mediador é produzido pela resposta T-Helper 2  
20 (TH2) e por mastócitos ativados. A ativação dos eosinófilos maduros e a promoção do  
21 crescimento e diferenciação dos eosinófilos são suas principais funções. A ativação dos  
22 eosinófilos promove a liberação do conteúdo dos grânulos, com destruição de helmintos e  
23 também possível danificação de tecidos do hospedeiro. IL-5 também estimula a produção dos  
24 anticorpos IgA (ABBAS, LITCHMAN, PILLAI, 2015).

1           A IL-6 é uma citocina que apresenta importante atuação em respostas inflamatórias  
2 agudas, junto a IL-1 e ao TNF- $\alpha$ . Sua ação ocorre com efeitos locais e endócrinos, através da  
3 indução de síntese e secreção de inúmeros mediadores inflamatórios no fígado, estimulação  
4 da produção de neutrófilos na medula óssea e promoção da diferenciação de células T  
5 produtoras de citocinas. A IL-6 é sintetizada por fagócitos mononucleares, células endoteliais  
6 vasculares, fibroblastos e outras células em resposta a IL-1 e TNF (ROBBINS, COTRAN,  
7 2012; ABBAS, LITCHMAN, PILLAI, 2015).

8           A IL-8 é uma quimiocina, pois caracteriza-se por atividade quimiotática para  
9 leucócitos. É secretada por macrófagos ativados, células endoteliais e também por outros tipos  
10 celulares. Sua ação ocorre principalmente nos neutrófilos, através da ativação e quimiotaxia  
11 dos mesmos, com atividade limitada sobre monócitos e eosinófilos. O TNF- $\alpha$  e a IL-1 são os  
12 principais estimuladores da síntese de IL-8. As quimiocinas apresentam importantes funções  
13 na regulação do recrutamento e ativação de leucócitos, e também atuam em células do  
14 estroma (fibroblastos, células de músculo liso e células progenitoras hematopoiéticas)  
15 (ROBBINS, COTRAN, 2012). A IL-8 é o principal mediador quimiotático durante a  
16 migração dos neutrófilos para os tecidos (ABBAS, LITCHMAN, PILLAI, 2015).

17           A IL-10 é uma citocina inibidora de macrófagos ativados e células dendríticas, e está  
18 envolvida no controle das reações imunológicas inatas e da imunidade mediada por célula. A  
19 IL-10 inibe a produção de várias citocinas inflamatórias por macrófagos e células dendríticas  
20 ativadas. Pelo fato de ser produzida pelos macrófagos e inibir as funções dos mesmos, a IL-10  
21 é considerada uma reguladora de retroalimentação negativa. Essa citocina também é  
22 produzida pelas células T regulatórias e por alguns linfócitos B, que apresentam funções de  
23 imunossupressão, sendo chamados de células B regulatórias (ABBAS, LITCHMAN, PILLAI,  
24 2015).

1           O conhecimento adquirido acerca das citocinas tem repercussões terapêuticas práticas.  
2   É possível controlar efeitos nocivos da inflamação ou reações imunes lesivas aos tecidos,  
3   através da regulação da produção ou ação das citocinas. Dessa forma, pode-se realizar a  
4   administração de citocinas recombinantes com o objetivo de aumentar a imunidade contra o  
5   câncer ou infecções microbianas (imunoterapia) (ROBBINS, COTRAN, 2012).

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

1

2

3

4

5

6

7

**2 JUSTIFICATIVA**

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

## 2. JUSTIFICATIVA

As neoplasias ovarianas apresentam altos índices de morbimortalidade, principalmente devido a diagnóstico tardio e falhas terapêuticas. É uma doença com altos índices de recidiva, mesmo com o uso das terapias preconizadas, como cirurgia oncológica e esquemas quimioterápicos. É necessário o estudo de novas abordagens terapêuticas. As citocinas podem atuar como marcadores tumorais e, ao serem dosadas, servirão como determinação de malignidade de uma lesão ovariana, e também como fator prognóstico para a doença. Com novos fatores prognósticos, torna-se mais adequada a escolha do tratamento, e novos alvos para futuras terapias podem ser melhor estudados.

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15
- 16
- 17
- 18
- 19
- 20
- 21
- 22
- 23
- 24
- 25

**3 HIPÓTESE**

### 1 3 HIPÓTESE

2

3 O aumento nos níveis séricos de citocinas está relacionado com fatores de pior prognóstico  
4 em neoplasias malignas do ovário.

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24



- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15
- 16
- 17
- 18
- 19
- 20
- 21
- 22
- 23
- 24
- 25

**4 OBJETIVOS**

#### 1 4 OBJETIVOS

2

3 O objetivo desse estudo foi relacionar a dosagem de citocinas IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e  
4 TNF- $\alpha$  no plasma com fatores prognósticos clínicos (sobrevida livre de doença e sobrevida  
5 global), laboratoriais (marcadores tumorais, relação neutrófilo-linfócito, relação plaqueta-  
6 linfócito, níveis de hemoglobina) e patológicos (estadiamento, grau tumoral e tipos I e II de  
7 câncer de ovário) de pacientes com neoplasia maligna primária do ovário.

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
  
20  
21  
22  
23  
24

## **5 MATERIAIS E MÉTODOS**

## 1 5.1 PACIENTES

2 Trata-se de estudo de Coorte Prospectivo, envolvendo pacientes atendidas no  
3 Ambulatório de Massa Pélvica da Disciplina de Ginecologia e Obstetrícia / Instituto de  
4 Pesquisa em Oncologia (IPON) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM,  
5 entre os anos de 2009 e 2016, com indicação de tratamento cirúrgico de acordo com critérios  
6 pré-estabelecidos.

7

### 8 *5.1.1 Critérios de Indicação de Laparotomia Exploradora*

9 Os critérios de indicação de cirurgia foram: cistos anecoicos com diâmetro máximo menor  
10 que 7cm, com persistência da alteração por mais que 6 meses e marcadores tumorais normais;  
11 marcadores tumorais alterados; cistos anecoicos com diâmetro máximo maior ou igual a 7cm;  
12 massas ovarianas com conteúdo sólido, presença de vegetação intracística, septos grossos, 2  
13 ou mais septos finos; bilateralidade; presença de ascite; color Doppler com índice de  
14 resistência menor ou igual a 0,4 (MURTA et al., 2004; MURTA & NOMELINI, 2006).

15

### 16 *5.1.2 Critérios para coleta de soro e avaliação das citocinas*

17 Todas as pacientes foram acompanhadas no pré-operatório para a coleta de soro para a  
18 dosagem de citocinas. Foram revisados os resultados anatomopatológicos em parafina, sendo  
19 então incluídas no estudo as pacientes com diagnóstico confirmado de neoplasia maligna  
20 primária do ovário (n=26).

21 Foi realizado ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) para a dosagem das  
22 citocinas séricas IL-2, IL5, IL-8, IL10 e TNF- $\alpha$ , conforme detalhado a seguir.

1            Consentimento foi obtido de cada paciente incluída no estudo (Anexo A). O estudo foi  
2 aprovado pelo CEP/UFTM (Anexo B).

3

#### 4 **5.1.3 Critério de Inclusão**

5            O critério de inclusão foi o diagnóstico de neoplasia maligna e de neoplasia maligna  
6 de baixo potencial (*borderline*) do ovário.

7

#### 8 **5.1.4 Critérios de Exclusão**

9            Os critérios de exclusão foram torção do pedículo anexial, neoplasia maligna  
10 secundária de ovário (metástase), tratamento antineoplásico prévio, doenças  
11 imunossupressoras e recidiva.

12

#### 13 **5.1.5 Dados Analisados**

14            Os seguintes dados dos prontuários foram anotados em banco de dados específico para  
15 o estudo: idade, tipo histológico, grau histológico, estadiamento (FIGO), classificação em tipo  
16 I e tipo II de câncer de ovário, no caso de tumores epiteliais (KURMAN, SHIH, 2010),  
17 sobrevida livre de doença, sobrevida global, marcadores tumorais pré-operatórios (CA 125,  
18 CA 15.3, CA 19.9), níveis pré-operatórios de hemoglobina, relação neutrófilo-linfócito  
19 (RNL), relação plaqueta-linfócito (RPL) e os resultados dos experimentos.

20            RNL e RPL foram obtidos através da divisão do número absoluto de neutrófilos e  
21 plaquetas pelo número absoluto de linfócitos, respectivamente. Utilizou-se como valor de

1 corte 4 para RNL (DIJKGREAF et al., 2015; KOH, 2015), e 200 para RPL (AZAB, SHAH,  
2 RADBEL, 2013; KOH, 2015). Em relação aos tumores epiteliais, foram considerados tumores  
3 ovarianos do tipo I os tumores *borderline* serosos, carcinomas serosos de baixo grau e  
4 carcinomas mucinosos, endometrioides e de células claras. Foram considerados tumores do  
5 tipo II os carcinomas serosos de alto grau, tumores mesodérmicos malignos mistos  
6 (carcinossarcomas) e indiferenciados (KURMAN & SHIH, 2010; ALI-FEHMI et al., 2011;  
7 KURMAN & SHIH, 2011). Na classificação por grau histológico, os tumores de células da  
8 granulosa foram incluídos juntamente com os tumores epiteliais de grau histológico 1.

9       Para a avaliação da sobrevida livre de doença (SLD), os grupos foram divididos em  
10 SLD  $\leq$  24 meses e SLD  $>$  24 meses. Para a avaliação da sobrevida global (SG), os grupos  
11 foram divididos em SG  $\leq$  60 meses e SG  $>$  60 meses. As pacientes que perderam o  
12 seguimento, ou cujos dados estavam incompletos no prontuário foram excluídas para essa  
13 avaliação.

14

15

16

17

18

19

20

21

## 1   **5.2    MÉTODOS**

2

### 3       **5.2.1    *Estudo anátomo-patológico***

4

5           Foi realizado no Serviço de Patologia Cirúrgica do Hospital das Clínicas da UFTM  
6 nos cortes embebidos em parafina. O estadiamento dos casos foi realizado de acordo com os  
7 critérios da *International Federation of Gynaecology and Obstetrics* – FIGO (ZEPPERINICK  
8 & MEINHOLD-HEERLEIN, 2014).

9

10

### 11       **5.2.2    *Coleta de Soro***

12

13           A coleta do soro foi realizada no pré-operatório. Amostras de sangue venoso foram  
14 coletadas através do sistema à vácuo em tubos com gel separador (BD Vacutainer®).  
15 Após 30 minutos de coagulação, as amostras foram centrifugadas em centrífuga refrigerada a  
16 4°C por 10 minutos à 2000 rpm, onde o soro foi armazenado em alíquotas de 250µL à -  
17 80°C até sua utilização. Os níveis de IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- $\alpha$  no plasma foram  
18 determinados por método imunoenzimático (ELISA), conforme detalhado a seguir. As  
19 concentrações foram calculadas através de comparação com curvas-padrão das mesmas.

20

21

22

### 1 5.2.3 ELISA

2

3 As amostras foram descongeladas uma vez imediatamente antes da análise. Os níveis séricos  
4 de IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- $\alpha$  foram medidos utilizando o kit ELISA (Enzyme-  
5 LinkedImmunsorbent Assay®) imunoenzimático tipo sanduíche (Aviscera Bioscience®  
6 Inc.), onde todos os reagentes foram preparados conforme protocolo do fabricante. Para a  
7 realização do teste, em resumo, foram adicionados aos poços da placa de ELISA,  
8 revestida com anticorpo monoclonal contra IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- $\alpha$ , 100 $\mu$ L de  
9 tampão de diluição, padrões diluídos, amostras e controle positivo correspondendo,  
10 respectivamente, aos poços branco, curva, amostras e controle positivo.

11 A placa de ELISA foi coberta por selante adesivo e incubada 2h em temperatura  
12 ambiente em microagitador de placas. Em seguida, foi realizada a aspiração e a lavagem dos  
13 poços 3 vezes com 300 $\mu$ L de tampão de lavagem, utilizando-se pipetas multicanal  
14 automáticas. Foi retirado totalmente o excesso de líquidos dos poços, adicionando-se, em  
15 seguida, 100 $\mu$ L do anticorpo de detecção biotilado contra IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e  
16 TNF- $\alpha$ , onde uma segunda incubação foi realizada por 2h em temperatura ambiente em  
17 microagitador de placas. Foi repetida a aspiração e lavagem como descrito acima e após foi  
18 adicionado 100 $\mu$ L do conjugado de estreptavidina com peroxidase (HRP) e uma terceira  
19 incubação foi realizada por 1h em temperatura ambiente em microagitador de placas  
20 completamente protegida da luz. Foram realizadas as lavagens, e em seguida foi adicionado  
21 100 $\mu$ L em cada poço da solução substrato de tetrametilbenzidina (TMB), incubando a placa  
22 por 5 min em temperatura ambiente completamente protegida da luz. Após a incubação,  
23 foram adicionados em cada poço 100 $\mu$ L da solução de parada (0,5M de HCl). Finalmente, a  
24 densidade óptica de cada poço foi determinada utilizando um leitor de microplacas fixado



1 para 450nm. O teste possui um limite de detecção de 1pg/mL, precisão interensaio de 8-  
2 10% e precisão intraensaio de 4-6%.

3

#### 4 **5.2.4 *Análise Estatística***

5 Os dados foram analisados pelo GraphPad Prism software. Foi utilizado o teste de  
6 normalidade Kolmogorov-Smirnov. Os resultados foram expressos por medianas e os fatores  
7 prognósticos foram avaliados através de teste de Mann-Whitney. As diferenças foram  
8 consideradas significativas para  $p < 0,05$ .

9

10

#### 11 **5.2.5 *Redação do texto***

12 O texto desse trabalho foi redigido conforme as normas técnicas da Associação  
13 Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 2016).

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15
- 16
- 17
- 18
- 19
- 20
- 21
- 22
- 23
- 24
- 25

**6 RESULTADOS**

## 6 RESULTADOS

A idade mediana das pacientes analisadas foi 52,04 anos. Foram avaliados 26 casos de neoplasias malignas de ovário, com os seguintes tipos histológicos: um (3,8%) caso de adenocarcinoma endometriode, 5 (19,2%) casos de cistoadenocarcinoma seroso papilífero, um (3,8%) caso de adenocarcinoma seroso pouco diferenciado, um (3,8%) caso de carcinoma de células claras, 5 (19,2%) casos de tumor mucinoso *borderline*, um (3,8%) caso de neoplasia maligna pouco diferenciada, 4 (15,3%) casos de tumor de células da granulosa, 2 (7,6%) casos de disgerminoma, 2 (7,6%) casos de tumor germinativo misto maligno, 3 (11,5%) casos de tumor seroso *borderline* e um (3,8%) caso de tumor de seio endodérmico.

Foram identificados 9 (34,61%) pacientes em estadiamento IA, 3 (11,53%) pacientes em estadiamento IB, 6 (23,07%) pacientes em estadiamento IC, uma (3,8%) paciente em estadiamento II, uma (3,8%) paciente em estadiamento IIIA, uma (3,8%) paciente em estadiamento IIIB e cinco (19,23%) pacientes em estadiamento IIIC.

Em relação ao grau tumoral, foram classificados em 1, 2 ou 3, de acordo com a diferenciação celular. Os tumores grau 1 são bem diferenciados, os tumores grau 2 são moderadamente diferenciados, e os tumores grau 3 são indiferenciados. Identificaram-se 12 (46,15%) tumores grau 1, 8 (30,7%) tumores grau 2 e 6 (23,07%) tumores grau 3. Conforme descrito em material e métodos, os tumores de células da granulosa foram inseridos em conjunto com os tumores grau 1 para a avaliação desse fator prognóstico.

Avaliando-se os 17 tumores epiteliais, em relação à classificação dos tumores em tipos 1 e 2, houve 10 tumores tipo 1 (58,82%) e 7 tumores tipo 2 (41,18%).

Não houve nenhuma relação dos valores séricos de IL2 e IL5 com os fatores prognósticos estudados.

1           Avaliando-se a IL6, observou-se que níveis séricos mais elevados associaram-se a  
2   sobrevida global menor que 60 meses ( $p=0,0382$ ) quando comparada com sobrevida global  
3   maior que 60 meses, e a valores alterados de CA125 sérico ( $> 35$  U/ml) comparados com  
4   níveis normais, mas apenas com tendência à significância ( $p=0,0976$ ).

5           Na avaliação da IL8, níveis séricos mais elevados estiveram associados a  $RNL \geq 4$  e  
6    $RPL \geq 200$  ( $p=0,0198$  e  $p=0,0072$ , respectivamente), a valores alterados de CA125 sérico  
7   ( $p=0,0457$ ), e a estágio IIIC ( $p=0,0486$ ). Em relação à IL10, níveis séricos mais elevados se  
8   associaram a  $RNL \geq 4$  e  $RPL \geq 200$  ( $p=0,0684$  e  $p=0,642$ , respectivamente), mas apenas no  
9   limiar de significância. Em relação ao TNF-alfa, encontrou-se apenas uma tendência à  
10   significância, com valores mais elevados em pacientes com sobrevida global menor que 60  
11   meses ( $0,0926$ ).

12           Os valores das citocinas estão representados em medianas nas Tabelas 3 e 4, e nas  
13   Figuras 1 a 12, de acordo com sua relação com fatores prognósticos clínicos (sobrevida livre  
14   de doença e sobrevida global), patológicos (estadiamento, grau tumoral e classificação em  
15   tipos 1 e 2) e laboratoriais (RNL, RPL níveis de hemoglobina e marcadores tumorais – CA  
16   125, CA 15.3 e CA 19.9).

17

18

19

20

21

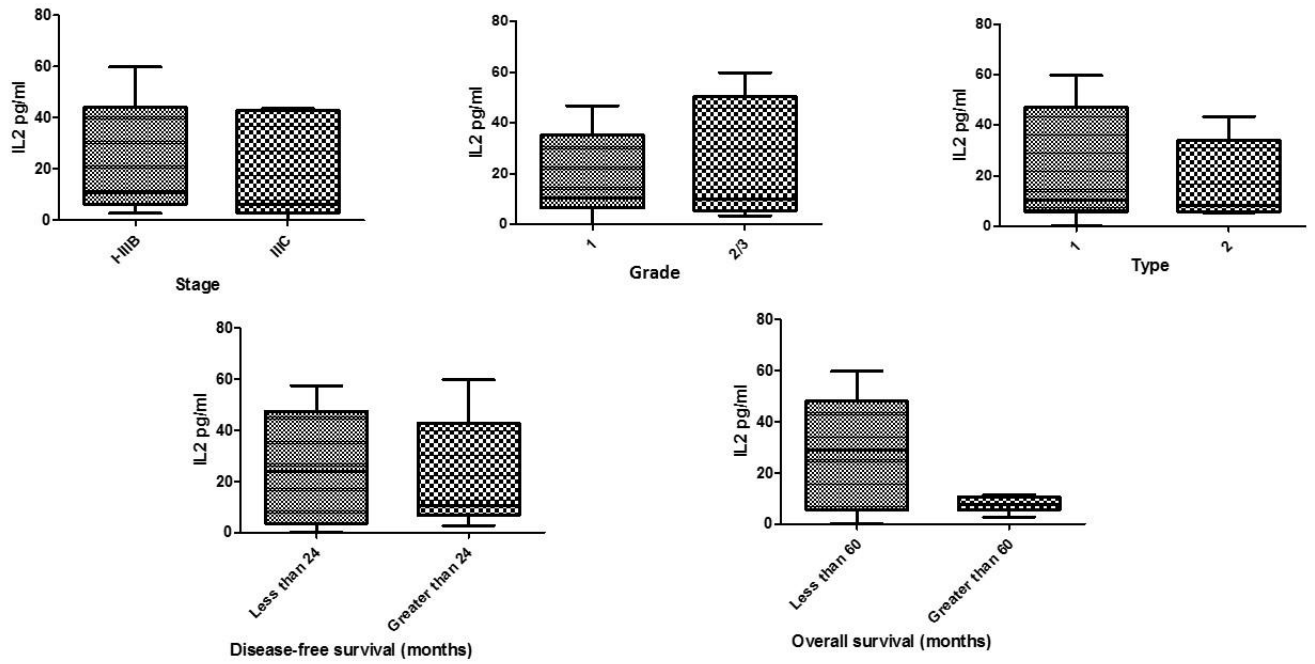
22

23

24

25

26



1

2

3 **Figura 1:** Relação de IL2 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos patológicos e

4 clínicos em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney).

5

6

7

8

9

10

11

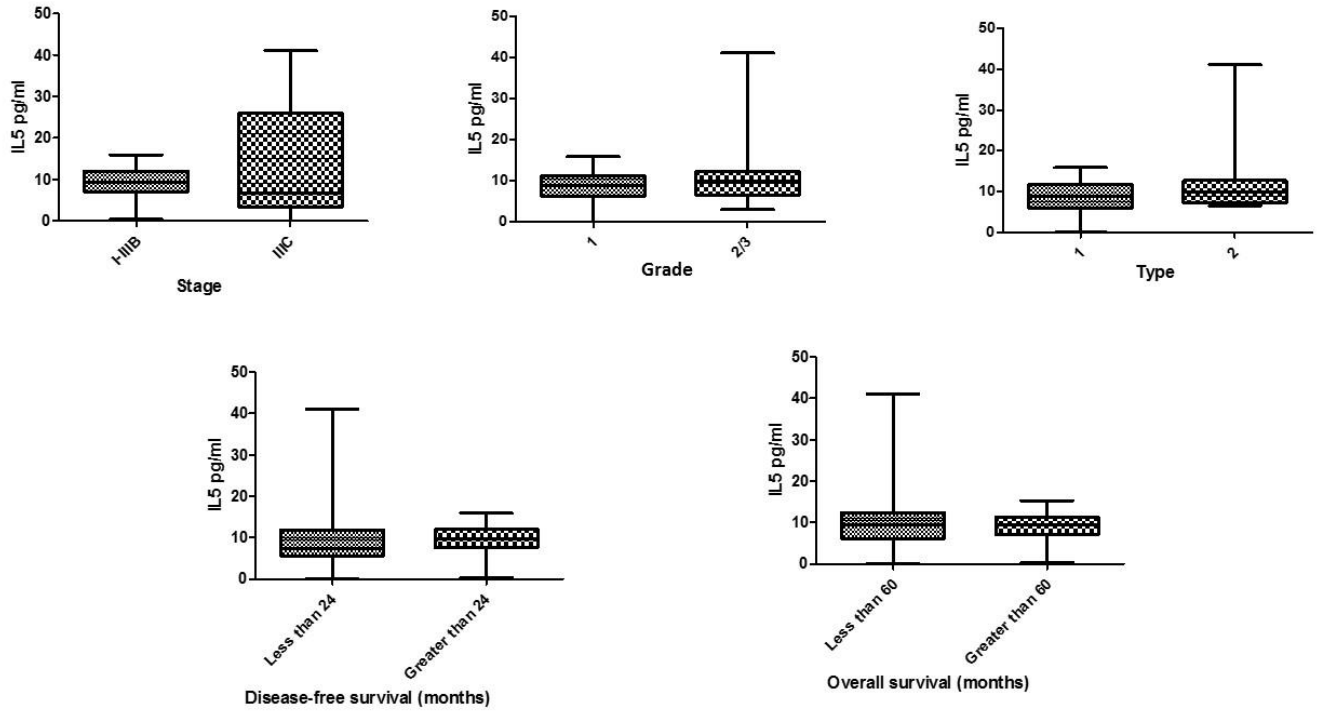
12

13

14

15

16



1

2 **Figura 2:** Relação de IL5 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos patológicos e  
 3 clínicos em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney).

4

5

6

7

8

9

10

11

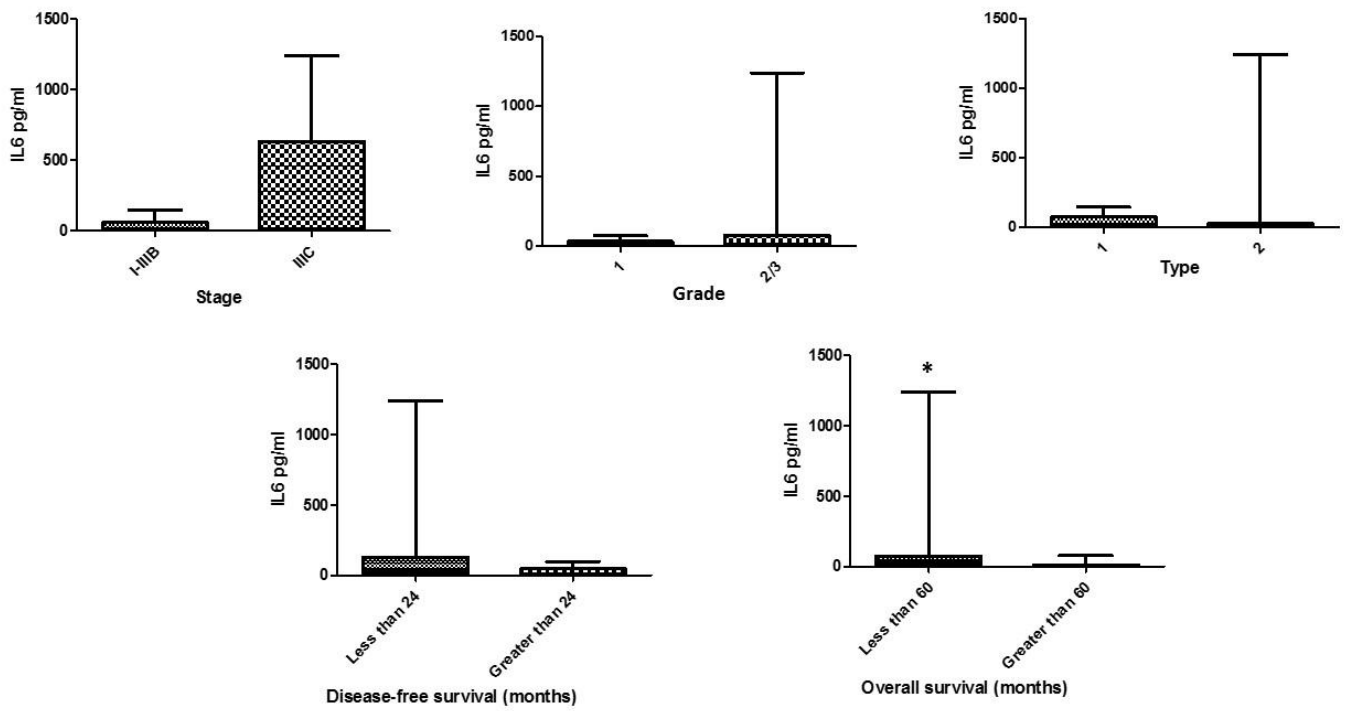
12

13

14

15

16



1

2 **Figura 3:** Relação de IL6 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos patológicos e  
 3 clínicos em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney; \*p=0.0382 comparado com SG>  
 4 60 meses).

5

6

7

8

9

10

11

12

13

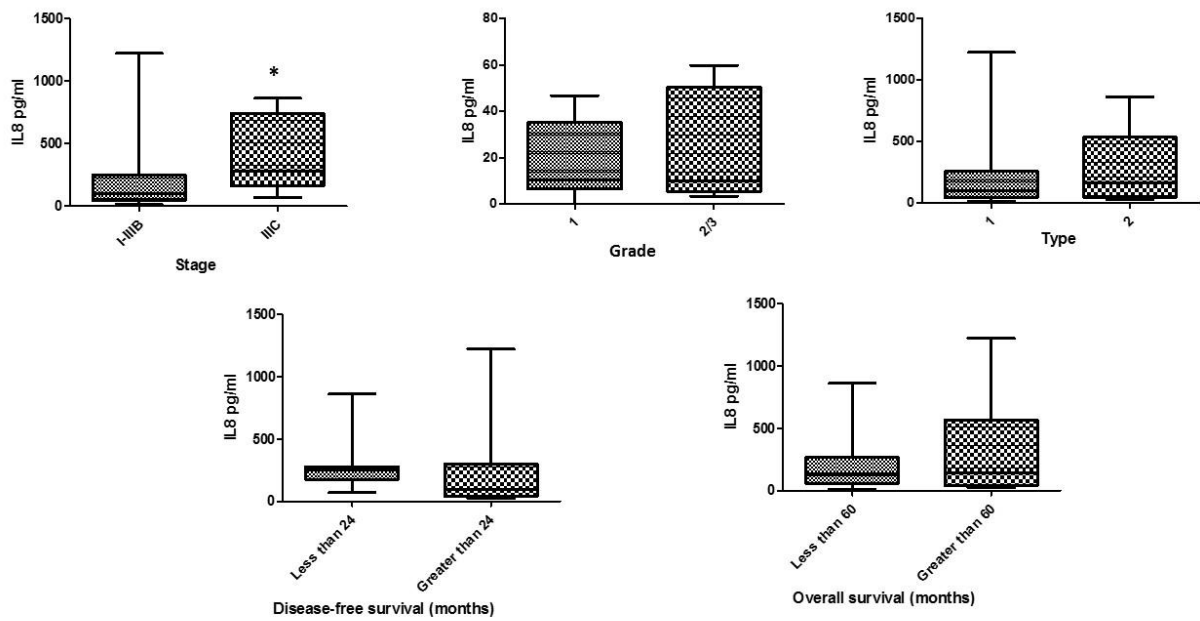
14

15

16

17

1



2

3 **Figura 4** – Relação de IL-8 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos  
 4 patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney; \*p=0.0486  
 5 comparado com estadiamentos I-IIIB).

6

7

8

9

10

11

12

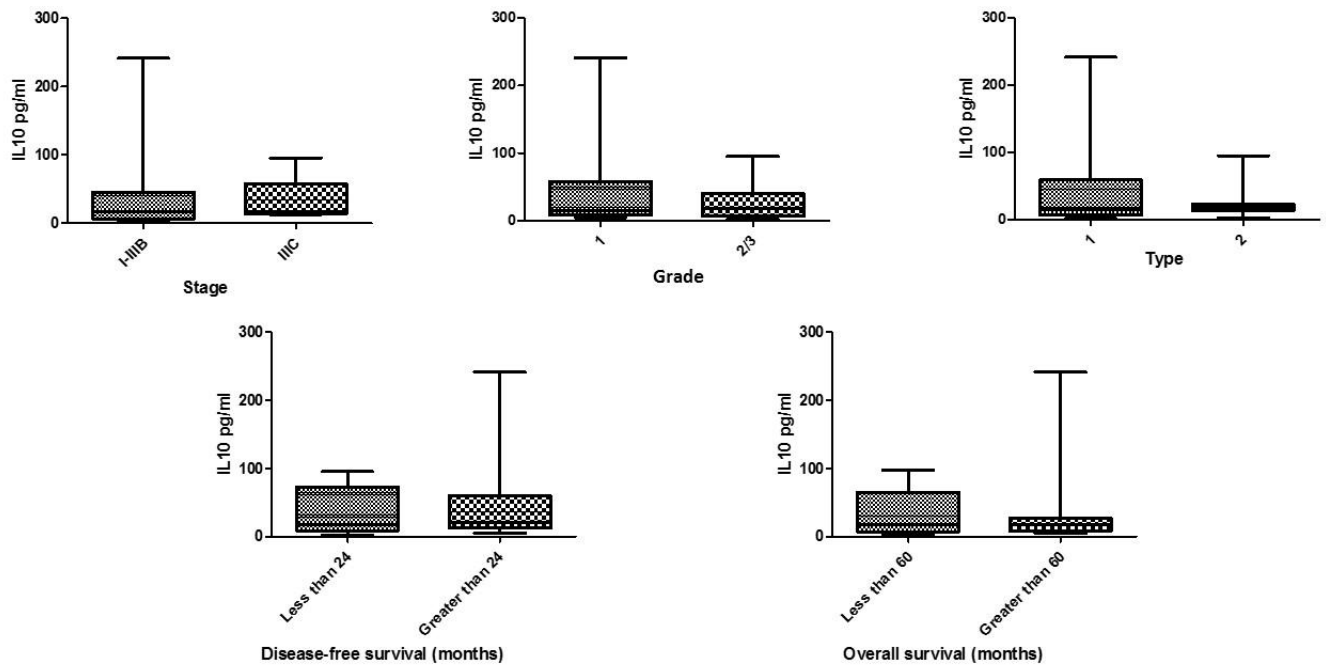
13

14

15

16





1

2

3 **Figura 5:** Relação de IL-10 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos

4 patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney).

5

6

7

8

9

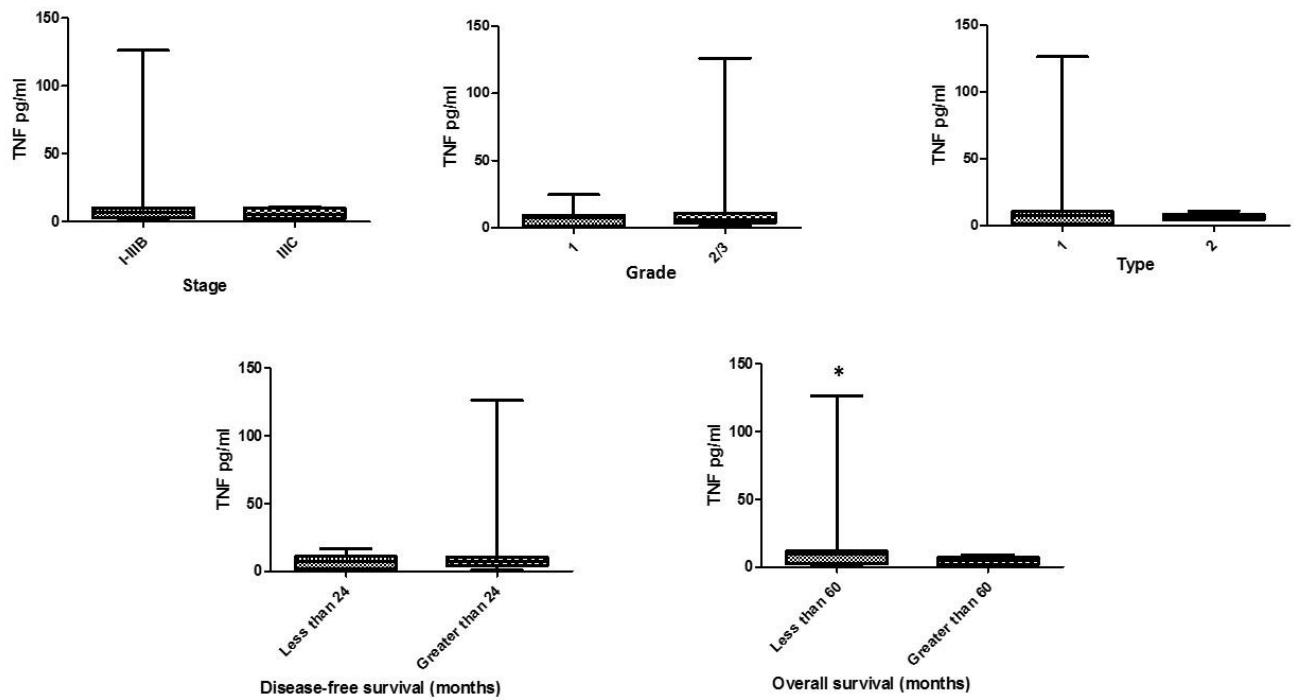
10

11

12

13

14



1

2 **Figura 6:** Relação de TNF-alfa (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos  
 3 patológicos e clínicos em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney; \*p = 0,0926  
 4 comparado com SG > 60 meses).

5

6

7

8

9

10

11

12

13

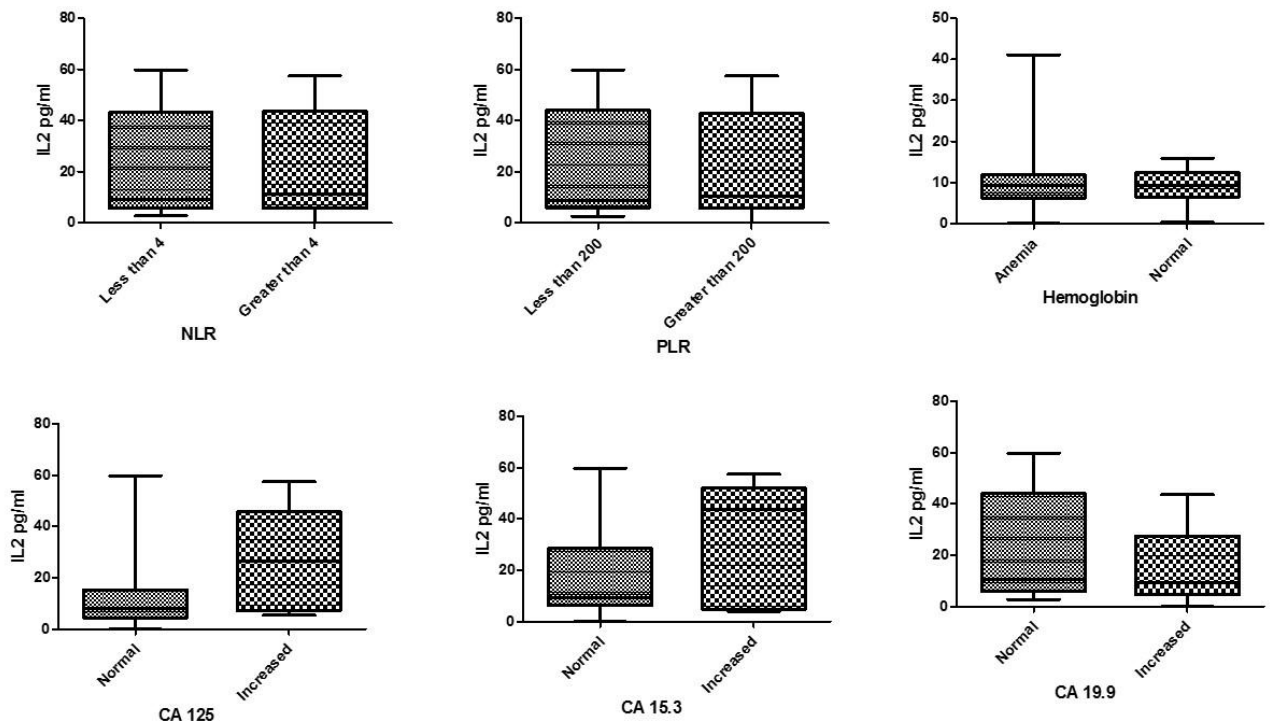
14

15

16

17

18



1 **Figura 7:** Relação de IL-2 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos  
 2 laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney).

3

4

5

6

7

8

9

10

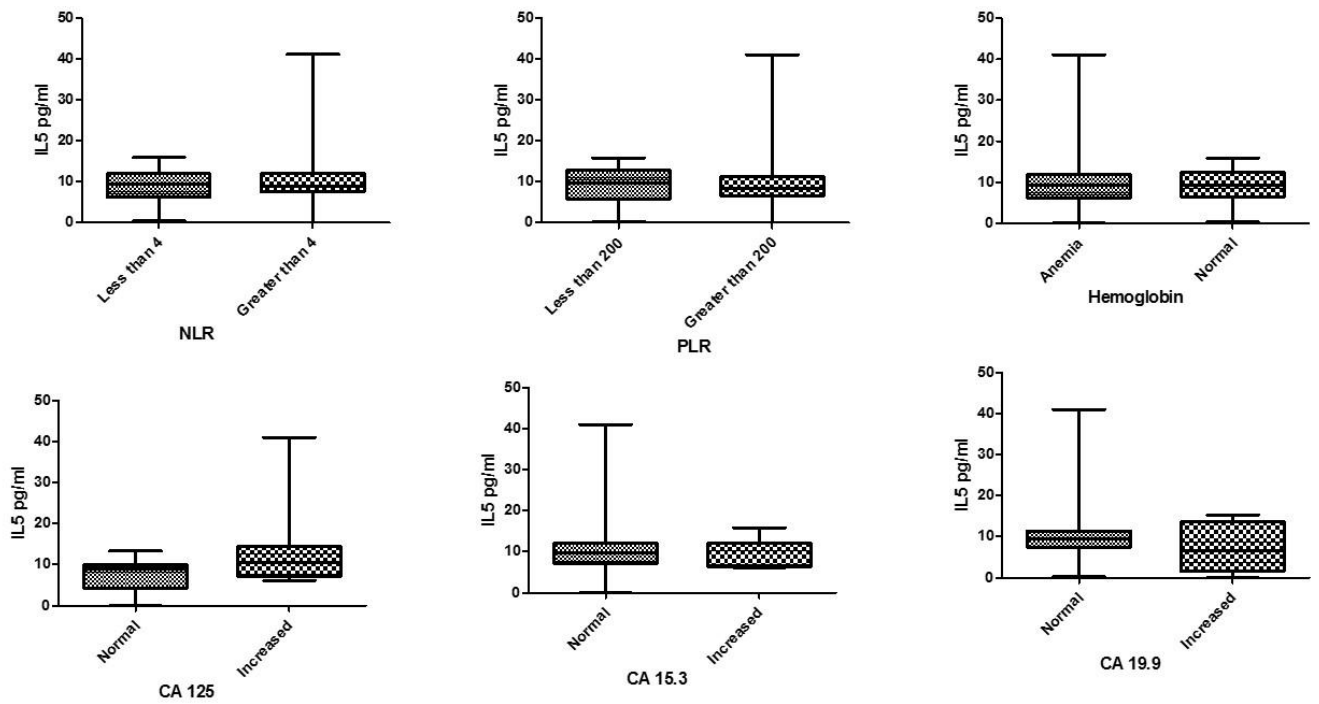
11

12

13

14

15



1 **Figura 8:** Relação de IL-5 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos  
 2 laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney).

3

4

5

6

7

8

9

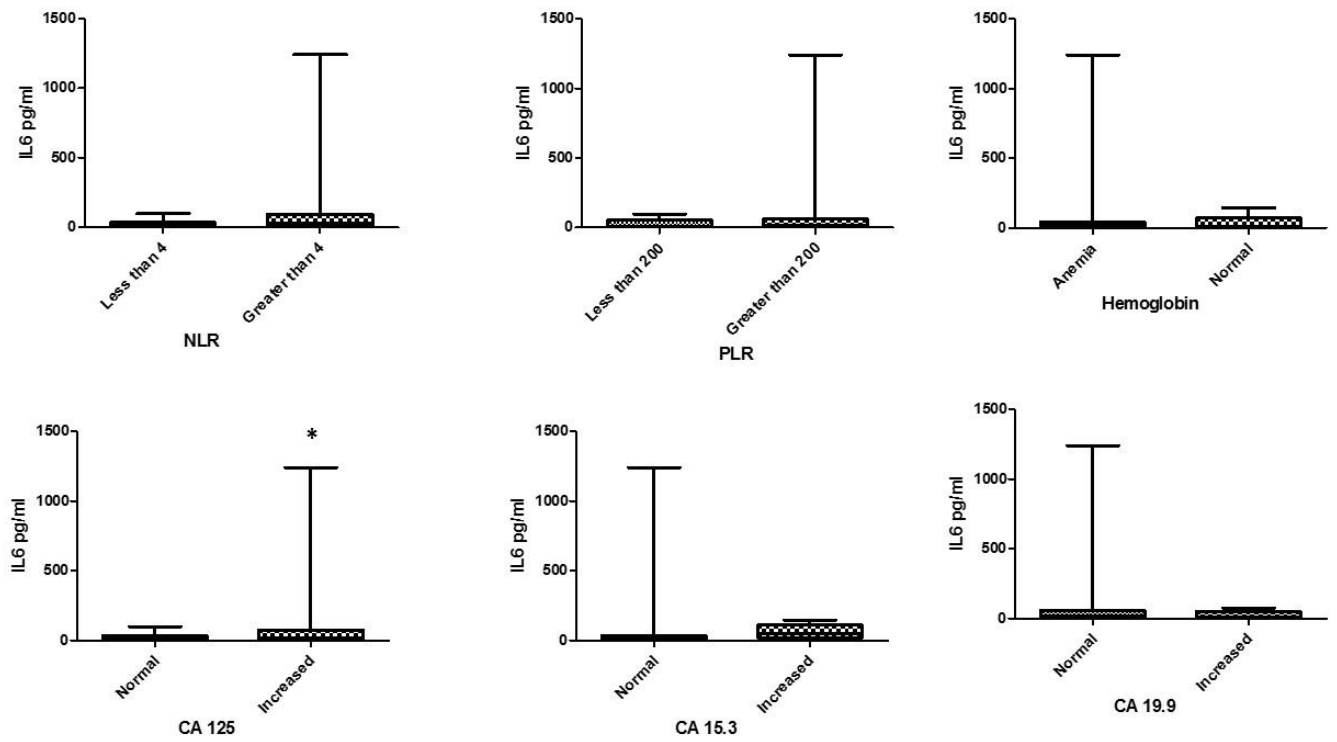
10

11

12

13

14



1 **Figura 9:** Relação de IL-6 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos  
 2 laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney; \*p=0.0976 comparado com  
 3 CA125 $\leq$  35).

4

5

6

7

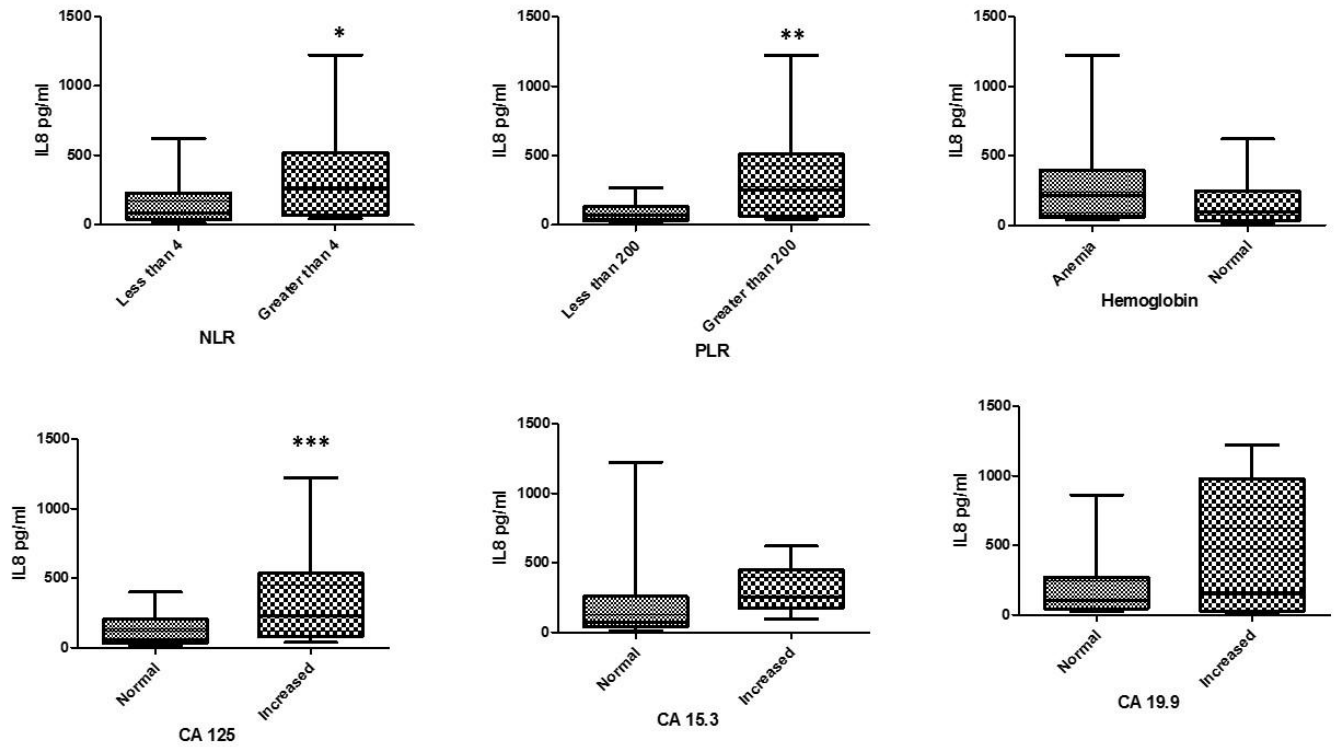
8

9

10

11

12



1 **Figura 10:** Relação de IL8 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos  
 2 laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney; \*p=0.0198 comparado com  
 3  $RNL \leq 4$ ; \*\*p=0.0072 comparado com  $RPL \leq 200$ ; \*\*\*p=0.0457 comparado com  $CA125 \leq 35$ ).

4

5

6

7

8

9

10

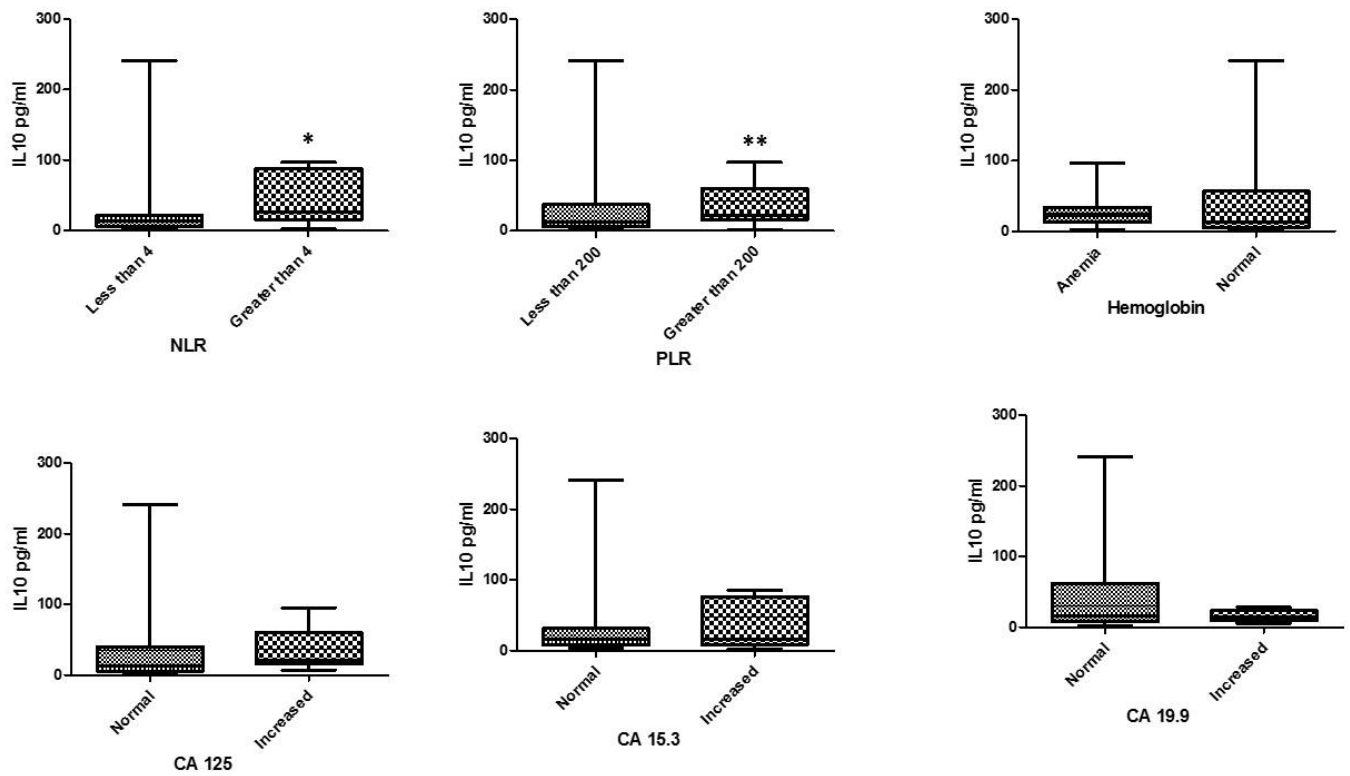
11

12

13

14

15



1 **Figura 11:** Relação de IL10 (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos  
 2 laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney; \*p=0.0684 comparado com  
 3  $RNL \leq 4$ ; \*\*p=0.0642 comparado com  $RPL \leq 200$ ).

4

5

6

7

8

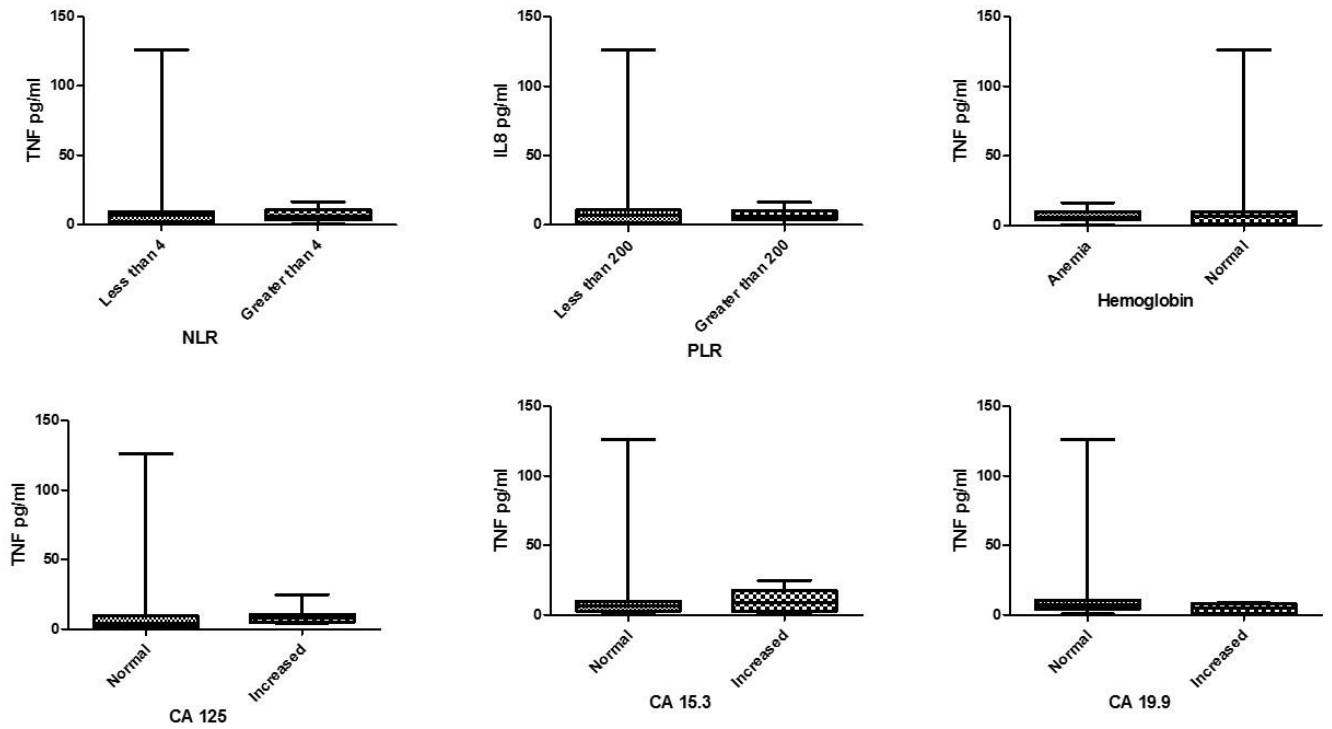
9

10

11

12

13



1 **Figura 12:** Relação de TNF-alfa (mediana, percentis 25 e 75) com fatores prognósticos  
 2 laboratoriais em neoplasias malignas de ovário (Mann-Whitney).

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25

**7 DISCUSSÃO**

## 7 DISCUSSÃO

O câncer de ovário persiste com índice de sobrevida baixo, e morbimortalidade alta. Isso se deve principalmente ao diagnóstico tardio e por inefetivos métodos para rastreamento. Novas estratégias precisam ser identificadas para que sejam definidos fatores prognósticos para a neoplasia de ovário (REZAEIFARD et al., 2015). Sabe-se que as citocinas estão envolvidas em uma rede de mecanismos, que podem levar ao desenvolvimento e também à imunossupressão tumoral (ABBAS, LITCHMAN, PILLAI, 2015). Em nosso estudo, foram avaliadas as dosagens das citocinas IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- $\alpha$  em 26 pacientes com diagnóstico de neoplasia maligna de ovário.

A IL-2 é uma citocina que induz à maturação de linfócitos B e maturação de células T. É uma proteína que regula as atividades dos leucócitos (frequentemente linfócitos), que são responsáveis pela imunidade. É uma citocina pleiotrópica que impulsiona o crescimento das células T, aumenta a atividade citolítica NK, induz à diferenciação das células T reguladoras e medeia a morte celular induzida pela ativação. A IL-2 não especifica o tipo de diferenciação TH que ocorre; em vez disso, ela modula a expressão de receptores para outras citocinas e fatores de transcrição, promovendo assim, ou inibindo cascatas de citocinas que se correlacionam com cada estado de diferenciação de TH (LIAO et al., 2017). Jammal et al. (2016) demonstraram uma imunomarcagem mais forte de IL-2 em neoplasias malignas quando comparado as com neoplasias benignas de ovário. Além disso, houve uma relação de imunomarcagem forte com neoplasias de ovário grau 3. Em nosso estudo, não houve nenhuma correlação entre dos valores séricos de IL-2 e os fatores prognósticos estudados, talvez devido à amostra pequena de pacientes no estudo.

As funções da IL-5 são estimular a produção de células B e aumentar a secreção de imunoglobulina. Também desempenha um papel essencial na ativação de eosinófilos. Essa

1 citocina é também expressa em eosinófilos, e foi observado em mastócitos nas vias  
2 pulmonares de pacientes asmáticos, por imunohistoquímica. A expressão de IL-5 é regulada por  
3 vários fatores de transcrição, incluindo GATA-3 (KAMINUMA et al., 2005). Em nosso  
4 estudo, não houve nenhuma associação entre valores séricos de IL-5 e os fatores prognósticos  
5 estudados.

6 A IL-6 é uma glicoproteína que tem sua produção mediada por outras citocinas como  
7 o fator de necrose tumoral, ou pela presença de microrganismos, e se comporta como um  
8 importante marcador inflamatório. Estudos demonstram que a IL-6 atua modulando a resposta  
9 do sistema imunológico da paciente portadora de neoplasia ovariana. A IL-6 é capaz de  
10 estimular a produção de outras citocinas inflamatórias, a infiltração tumoral de macrófagos  
11 em tecido ovariano e a angiogênese tumoral. Ela atua por meio de um complexo receptor de  
12 citocinas alfa (gp80) e de um repetidor de sinal gp130, posteriormente utilizada a cascata  
13 JaK/STAT Ras/ MAPK e PI3K-Akt (COWARD et al., 2011; SOUZA et al., 2012).  
14 Experimentos verificaram produção tumoral dessa citocina pró-inflamatória. Essa citocina  
15 promove inflamação, angiogênese e progressão tumoral (SOUZA et al., 2012).

16 Diversos estudos têm demonstrado que elevados níveis de IL-6 podem ser preditores  
17 de pior prognóstico e menor sobrevida em câncer de ovário (HEFLER et al, 2003; WANG et  
18 al., 2012; MATSUO et al., 2015; KOLOMEYEVSKAYA et al. 2015; YANAIHARA et al.,  
19 2016). IL-6 está relacionada à quimiorresistência e a um microambiente tumoral imuno-  
20 supressivo. Um estudo avaliou a combinação de tocilizumabe (inibidor da ligação de IL-6 a  
21 seus receptores) com Interferon gama (Peg Intron®), associados a quimioterapia com  
22 carboplatina e doxorubicina e observou benefício na sobrevida (DIJKGRAAF et al., 2015). A  
23 IL-6 tem sido descrita como grande contribuinte na iniciação e progressão do câncer de  
24 ovário, sendo ativador do padrão de transcrição STAT3. JAK/STAT3 é um dos maiores  
25 padrões de sinalização que é ativado de forma aberrante em câncer de ovário e associado com

1 progressão tumoral e pior prognóstico, e a inibição desse padrão poderia ser alvo terapêutico  
2 nessa neoplasia (WEN et al. 2014; ZOU, ZHANG, XU, 2016). Estudo recente demonstrou  
3 que 3,3'-diindolylmethane (DIM) exibe atividade anti-IL-6 por inibir, *in vitro*, adesão,  
4 migração e invasão em linhagens de câncer de ovário (SKOV3 e A2780) (ZOU, ZHANG,  
5 XU, 2016). O carcinoma de células claras do ovário tem característica de quimiorresistência,  
6 levando a um pior prognóstico e pode ter relação com níveis elevados de IL-6 (ANGLESIO et  
7 al., 2011; MATSUO et al., 2015). Nesse tipo de tumor, elevados níveis de IL-6 estiveram  
8 associados a menor sobrevida livre de progressão (MATSUO et al., 2015; YANAIHARA et  
9 al, 2016).

10 A combinação de altos níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 em ascite na cirurgia primária para  
11 câncer epitelial do ovário avançado foi preditor de pior sobrevida livre de progressão  
12 (KOLOMEYEVSKAYA et al. 2015). A IL-6 pode ter ação na carcinogênese ovariana  
13 (PINCIROLI et al., 2013). Essa citocina promove inflamação, angiogênese e progressão  
14 tumoral (YU et al., 2015; KUMARI et al., 2016; HARA et al., 2017).

15 Isso está em concordância com nosso estudo, onde observou-se que níveis séricos  
16 mais elevados de IL-6 estiveram associados à sobrevida global menor que 60 meses. Houve  
17 também associação com valores alterados de CA125 sérico, mas apenas com tendência à  
18 significância.

19 A IL-8 é uma citocina proangiogênica encontrada em diversos tipos de neoplasias  
20 humanas. Foi demonstrado que a IL-8 desempenha um importante papel no desenvolvimento  
21 de células cancerígenas do ovário. Autores sugeriram que modulação da IL-8 pelas células  
22 neoplásicas do ovário se dá através da expressão de vetores diretos e indiretos (XU &  
23 FIDLER, 2000). É uma citocina proangiogênica, encontrada em diversos tipos de neoplasias  
24 humanas (XIE, 2001). Inibição dos receptores de IL-8 poderia aumentar a resposta à  
25 quimioterapia com platina (STRONACH et al., 2015), sua secreção está relacionada à

1 proliferação, potencial angiogênico, adesão e invasão tumoral no câncer de ovário (WANG et  
2 al., 2012).

3 Expressão aumentada de IL-8 e CXCL8 está associada a aumento da proliferação  
4 celular, angiogênese e metástases durante a progressão do câncer, estando associado a pior  
5 prognóstico em câncer de próstata e de ovário (GATLA et al., 2014). O papel da NF- $\kappa$ B em  
6 células de câncer epitelial de ovário e macrófagos foi avaliada através da produção *in vitro* de  
7 IL-6 e IL-8 pelas células do câncer, sendo demonstrado um aumento dessas interleucinas  
8 imunossupressoras (NISHIO et al., 2014).

9 Em nosso estudo, demonstramos níveis séricos mais elevados de IL-8 associados à  
10 RNL  $\geq 4$  e RPL  $\geq 200$ , que são fatores de pior prognóstico, a valores alterados de CA125  
11 sérico, e à estágio IIIC. Em nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo da literatura que  
12 demonstra relação da IL-8 com RNL e RPL.

13 A IL-10 é uma citocina imunossupressora e antiinflamatória, que suprime a resposta  
14 imune no ovário, por diversos mecanismos. Alguns estudos mostram que a combinação de  
15 dosagem dessa citocina e do CA-125 poderia ser útil para o diagnóstico e o seguimento dos  
16 resultados de quimioterapia em pacientes com câncer de ovário. Níveis elevados de CA-125 e  
17 IL-10 poderiam ser úteis para diferenciar tumores malignos de benignos (REZAEIFARD et  
18 al., 2015). Tecidos tumorais secretam citocinas imunossupressoras, dentre elas a IL-10  
19 (SINGH et al., 2016). Zou et al. (2016) demonstraram que existem níveis elevados dessa  
20 citocina no tecido tumoral maligno quando comparados com tecido normal ou de lesão  
21 benigna. Níveis elevados de IL-10 são comuns em ascite e plasma, o que sugere que o tumor  
22 pode sintetizar essa citocina, que atua na progressão do tumor. Baixos níveis de IL-10 séricos  
23 foram encontrados após tratamento quimioterápico comparado ao diagnóstico, e após a  
24 cirurgia de citorredução, a redução de IL-10 foi significativa (COOSEMANS et al., 2015).

1 IL-10 pode exercer importante papel em eventos de evasão imune no câncer epitelial  
2 de ovário (LIU et al., 2012), e polimorfismos no gene IK10 parecem influenciar na sobrevida  
3 global e livre de doença (IOANA BRAICU et al, 2007). Mustea et al. (2009) demonstraram  
4 relação de níveis mais altos de IL10 com tumores mais indiferenciados. Níveis mais altos  
5 dessa citocina foram encontrados em ascite e soro de pacientes com câncer de ovário que em  
6 pacientes do grupo controle, e pode exercer um importante papel imunossupressor na  
7 patogênese dessa neoplasia. Altas concentrações estiveram relacionadas com fatores  
8 prognósticos, como recorrência, volume de ascite, grau histológico e tipo histológico, mas não  
9 houve relação com estadiamento (FIGO), idade ou tumor residual (MUSTEA et al., 2006).

10 Em nosso estudo, níveis séricos mais elevados de IL10 se associaram a RNL  $\geq 4$  e  
11 RPL  $\geq 200$  no limiar de significância.

12 Estudos têm demonstrado que o TNF- $\alpha$  atua na promoção de crescimento e progressão  
13 tumoral. O TNF- $\alpha$  encontra-se aumentada em tecidos neoplásicos malignos, e apresenta  
14 relação com inflamação local e tumorigênese (JAMMAL et al., 2014). O TNF- $\alpha$  é uma  
15 citocina multifuncional, podendo ter ação promotora ou supressora da formação tumoral  
16 (RODRIGUES et al., 2011). A produção do TNF- $\alpha$  é realizada principalmente pelos  
17 macrófagos. Entretanto, outras células podem produzi-lo, como os linfócitos T, mastócitos,  
18 células NK, células endoteliais, células de Langerhans, astrócitos, células do músculo liso e  
19 células de Kupffer fetal humana. Vários estímulos, como as endotoxinas, partículas virais,  
20 fungos e porção C5a do complemento, lipopolissacarídeos (LPS) são capazes de provocar a  
21 produção de TNF- $\alpha$  pelos macrófagos (WANG et al., 2016).

22 Um aumento significativo de TNF, sTNF-R1 e sTNF-R2 foi encontrado em soro de  
23 mulheres com tumor de ovário comparados ao controle (MIELCZAREK-PALACZ,  
24 KONDERA-ANASZ, SILORA, 2012). Em linfomas não-Hodgkin, altos níveis séricos de



1 sTNF-R2 podem predizer um pior prognóstico, sendo um útil biomarcador para selecionar o  
2 tratamento mais apropriado (GOTO et al., 2006).

3       TNF-  $\alpha$  é um importante mediador da inflamação e quando produzido cronicamente no  
4 microambiente do câncer de ovário pode aumentar o crescimento tumoral e invasão através da  
5 secreção de citocinas, fatores proangiogênicos e metaloproteinases. Etanercept é um receptor  
6 p75 TNF recombinante humano solúvel que se liga ao TNF-  $\alpha$  e o torna biologicamente  
7 indisponível, sendo demonstrado uma redução da IL-6, sendo uma potencial terapia para  
8 pacientes com câncer de ovário recorrente (MADHUSUDAN et al. 2005). No entanto, a  
9 maioria dos tratamentos baseados em TNF não levam em consideração a possibilidade de  
10 inibição seletiva do TNFR2. Sasi et al. (2014) mostraram que a inibição seletiva do eixo de  
11 sinalização TNF-TNFR2 levaria à apoptose tumoral e à inibição da angiogênese. Assim, esse  
12 seria um novo alvo para o tratamento do câncer. Na biologia tumoral, TNFR2 está associado  
13 ao acúmulo de Tregs que apresentam expressão de TNFR2<sup>+</sup>, e sua inibição poderia melhorar a  
14 resposta à administração de pequenas doses de TNF exógeno (CHEN et al., 2008).

15       Nosso estudo encontrou apenas uma tendência à significância nas dosagens séricas de  
16 TNF-alfa, com valores mais elevados em pacientes com sobrevida global menor que 60  
17 meses.

18       Dosagens de citocinas poderão ser úteis como marcadores que determinam  
19 prognóstico em malignidade ovariana. Porém, novos estudos com uma maior amostra de  
20 pacientes são necessários para uma melhor definição do papel das citocinas na progressão do  
21 câncer de ovário.

22

23

24

25

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15
- 16
- 17
- 18
- 19
- 20
- 21
- 22
- 23
- 24
- 25

**8 CONCLUSÃO**

## 1     **8    CONCLUSÃO**

2  
3           Níveis séricos mais elevados de IL-6 associaram-se à sobrevida global menor que 60  
4 meses ( $p=0,0382$ ). Níveis séricos mais elevados de IL-8 associaram-se à  $RNL \geq 4$  e  $RPL \geq$   
5 200, a valores alterados de CA125 sérico, e a estágio IIIC.

6           Portanto, há relação entre o aumento de citocinas séricas e fatores de pior prognóstico  
7 em câncer de ovário, em especial a IL-6 e a IL-8. Novos estudos com maior amostra de  
8 pacientes são necessários para se confirmar o papel das citocinas como fatores prognósticos e  
9 na definição de tratamento e na perspectiva de futuras terapias-alvo.

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

1

2

3

4

5

6

7

## **9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

- 1 ABBAS, AK; LITCHMAN, AH; PILLAI, S. *Imunologia Celular e Molecular*. 8<sup>a</sup>  
2 Edição. Editora Elsevier. 2015.  
3
- 4 ALI-FEHMI, R; SEMAAN, A; SETHI, S; ARABI, H; BANDYOPADHYAY, S;  
5 HUSSEIN, YR; DIAMOND, MP; SAED, G; MORRIS, RT; MUNKARAHAR, I.  
6 Molecular typing of epithelial ovarian carcinomas using inflammatory markers. *Cancer*,  
7 2011 Jan 15;117(2):301-9.  
8
- 9 AMERICAN CANCER SOCIETY. *Cancer Facts & Figures 2015*. Atlanta, GA, 2015.  
10 Disponível em <http://www.cancer.org/research/cancerfactsstatistics/cancerfactsfigures2015/>.  
11 Acesso em: 26 de janeiro de 2015.  
12
- 13 ANGLÉSIO, MS; GEORGE, J; KULBE, H; FRIEDLANDER, M; RISCHIN, D; LEMECH,  
14 C; POWER, J; COWARD, J.; COWIN, PA; HOUSE, CM; CHAKRAVARTY, P;  
15 GORRINGE, KL; CAMPBELL, IG; AUSTRALIAN OVARIAN CANCER STUDY  
16 GROUP, OKAMOTO, A; BIRRER, MJ; HUNTSMAN, DG; DE FAZIO, A; KALLOGER,  
17 SE; BALKWILL, F; GILKS, CB; BOWTELL, DD. IL6-STAT3-HIF signaling and  
18 therapeutic response to the angiogenesis inhibitor sunitinib in ovarian clear cell cancer. *Clin*  
19 *Cancer Res*. 2011 Apr 15;17(8):2538-48.  
20
- 21 ASHER, V; LEE, J; INNAMAA, A; BALI, A. Preoperative platelet lymphocyte ratio as  
22 an independent prognostic marker in ovarian cancer. *Clin Transl Oncol*. 2011  
23 Jul;13(7):499-503.  
24

- 1 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). Disponível em:  
2 <http://www.abnt.org.br/> . Acesso em 20/03/2016.  
3
- 4 AZAB, B; SHAH, N; RADBEL, J. Pretreatment neutrophil/lymphocyte ratio is superior  
5 to platelet/lymphocyte ratio as a predictor of long-term mortality in breast cancer  
6 patients. *Medical Oncology*. 2013;30:1-11.  
7
- 8 BARBIERI, F; BAJETTO, A; FLORIO, T. Role of chemokine network in the  
9 development and progression of ovarian cancer: a potential novel pharmacological  
10 target. *J Oncol*. 2010;2010:426956. doi: 10.1155/2010/426956. PubMed PMID:  
11 20049170; PubMed Central PMCID: PMCPMC2798669.  
12
- 13 CANNISTRA, AS; LEVINE, DA; RAMONI, MF; JOSEPH, M; GU, X; BOYD, J;  
14 LIBERMANN, TA; SPENTZOS, D. Gene expression signature with independent  
15 prognostic significance in epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol*. 2004 Dec  
16 1;22(23):4700-10. Epub 2004 Oct 25.  
17
- 18 CASAGRANDE, JT; LOUIE, EW; PIKE, MC; ROY, S; ROSS, RK; HENDERSON,  
19 BE. "Incessant ovulation" and ovarian cancer. *Lancet*. 1979 Jul 28;2(8135):170-3.  
20
- 21 CHEN, X1; SUBLESKI, JJ; KOPF, H; HOWARD, OM; MÄNNEL, DN; OPPENHEIM, JJ.  
22 Cutting edge: expression of TNFR2 defines a maximally suppressive subset of mouse  
23 CD4+CD25+FoxP3+ T regulatory cells: applicability to tumor-infiltrating T regulatory cells,  
24 *J. Immunol*. 180(2008) 6467-71.  
25

- 1 CHERCHI, PL; CAPOBIANCO, G; AMBROSINI, G; FADDA, GM; PIGA, MD; RUIU, G;  
2 FATTORINI, F; DESSOLE, S. Intracystic evaluation of tumor markers in benign and  
3 malignant ovarian pathology. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2002;23(2):163-5.  
4
- 5 COOSEMANS, A.; DECOENE, J.; BAERT, T.; LAENEN, A; KASRAN, A;  
6 VERSCHUERE, T; SEYS, S; VERGOTE, I. Immunosuppressive parameters in serum  
7 of ovarian cancer patients change during the disease course. *Oncoimmunology.*  
8 2015;5(4):e1111505.  
9
- 10 COWARD, J; KULBE, H; CHAKRAVARTY, P; LEADER, D; VASSILEVA, V;  
11 LEINSTER, DA; THOMPSON, R; SCHIOPPA, T; NEMETH, J; VERMEULEN, J;  
12 SINGH, N; AVRIL, N; CUMMINGS, J; REXHEPAJ, E; JIRSTRÖM, K;  
13 GALLAGHER, WM; BRENNAN, DJ; MCNEISH, IA; BALKWILL, FR. Interleukin-6  
14 as a therapeutic target in human ovarian cancer. *Clin Cancer Res.* 2011 Sep  
15 15;17(18):6083-96. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0945. Epub 2011 Jul 27.  
16
- 17 DIJKGRAAF, EM; SANTEGOETS, SJ; REYNERS, AK; GOEDEMANS, R; WOUTERS,  
18 MC; KENTER, GG; VAN ERKEL, AR; VAN POELGEEST, MI; NIJMAN, HW; VAN DER  
19 HOEVEN, JJ; WELTERS, MJ; VAN DER BURG, SH; KROEP, JR. A phase I trial  
20 combining carboplatin/doxorubicin with tocilizumab, an anti-IL-6R monoclonal antibody, and  
21 interferon- $\alpha$ 2b in patients with recurrent epithelial ovarian cancer. *Ann Oncol.* 2015  
22 Oct;26(10):2141-9.  
23

- 1 DIRICAN, A.; KUCUKZEYBEK, B.B.; ALACACIOGLU, A. Do the derived  
2 neutrophil to lymphocyte ratio and the neutrophil to lymphocyte ratio predict prognosis  
3 in breast cancer? *International Journal of Clinical Oncology*. 2015;20:70-81.  
4
- 5 FATHALLA, MF. Incessant ovulation: a factor in ovarian neoplasia? *Lancet*, v. 2, m. 7716, p.  
6 163, 1971.  
7
- 8 FELDMAN, GB; KNAPP, RC. Lymphatic drainage of the peritoneal cavity and its  
9 significance in ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol*. 1974 Aug 1;119(7):991-4.  
10
- 11 GATLA, HR; SINGHA, B; PERSAUD, V; VANCUROVA, I. Evaluating cytoplasmic and  
12 nuclear levels of inflammatory cytokines in cancer cells by western blotting. *Methods Mol*  
13 *Biol*. 2014;1172:271-83.  
14
- 15 GOTO, N; TSURUMI, T.; TAKEMURA, M; HARA, T; SAWADA, M; KASAHARA,  
16 S; KANEMURA, N; YAMADA, T; SHIMIZU, M; TAKAHASHI, T; TOMITA, E;  
17 SEISHIMA, M; TAKAMI, T; MORIWAKI, H. Serum-soluble tumor necrosis factor  
18 receptor 2 (sTNF-R2) level determines clinical outcome in patients with aggressive non-  
19 Hodgkin's lymphoma. *Eur J Haematol*. 2006 Sep;77(3):217-25.  
20
- 21 GUERRIERO, S; AJOSSA, S; MAIS, V; ANGIOLUCCI, M; PAOLETTI, AM;  
22 MELIS, GB. Role of transvaginal sonography in the diagnosis of peritoneal inclusion  
23 cysts. *J Ultrasound Med*. 2004 Sep;23(9):1193-200.  
24



- 1 HARA, M; NAGASAKI, T; SHIGA, K; TAKAHASHI, H; TAKEYAMA, H. High serum  
2 levels of interleukin-6 in patients with advanced or metastatic colorectal cancer: the effect on  
3 the outcome and the response to chemotherapy plus bevacizumab. Surg Today 2017,  
4 47(4):483-489.
- 5
- 6 HEFLER, LA; GRIMM, C; ACKERMANN, S; MALUR, S; RADJABI-RAHAT, AR;  
7 LEODOLTER, S; BECKMANN, MW; ZEILLINGER, R; KOELBL, H; TEMPFER, CB. An  
8 interleukin-6 gene promoter polymorphism influences the biological phenotype of ovarian  
9 cancer. Cancer Res. 2003 Jun 15;63(12):3066-8.
- 10
- 11 INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER DOS ESTADOS UNIDOS, 2016. Disponível em  
12 <https://www.cancer.gov/> . Acesso em 25/08/2016.
- 13
- 14 INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA),  
15 2016. Disponível em <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home> . Acesso  
16 em 15/09/2016.
- 17
- 18 IOANA BRAICU, E; MUSTEA, A; TOLIAT, MR; PIRVULESCU, C; KÖNSGEN, D; SUN,  
19 P; NÜRNBERG, P; LICHTENEGGER, W; SEHOULI, J. Polymorphism of IL-1alpha, IL-  
20 1beta and IL-10 in patients with advanced ovarian cancer: results of a prospective study with  
21 147 patients. Gynecol Oncol. 2007 Mar;104(3):680-5.
- 22
- 23 JAMMAL, MP; MARTINS-FILHO, A.; SILVEIRA, TP; MURTA, EF; NOMELINI,  
24 RS. Cytokines and Prognostic Factors in Epithelial Ovarian Cancer. Clin Med Insights  
25 Oncol. 2016 Aug 2;10:71-6.

- 1 JAMMAL, MP; SILVA, A.A., MARTINS FILHO, A.; COBO, E. C., ADAD, S. J.;  
2 MURTA, E.F.C., NOMELINI, R.S. Immunohistochemical staining of tumor necrosis  
3 factor- $\alpha$  and interleukin-10 in benign and malignant ovarian neoplasms. Maio/2014.  
4 Oncology letters.  
5
- 6 KAMINUMA, O; MORI, A; KITAMURA, N; HASHIMOTO, T; KITAMURA, F;  
7 INOKUMA, S. Role of GATA-3 in IL-5 gene transcription by CD4+ T cells of  
8 asthmatic patients. Int Arch Allergy Immunol 2005; 137 Suppl 1:55-9. Epub; %2005 Jun  
9 2.:55-59.  
10
- 11 KOH, YW; JUNG, SJ; YOON, DH; SUH, C; CHA, HJ; GO, H4; KIM, JE; KIM, CW;  
12 HUH, J. The absolute lymphocyte to monocyte ratio is associated with poor prognosis in  
13 classical Hodgkin lymphoma patients younger than 60 years of age. Hematol Oncol.  
14 2015 Sep;33(3):133-40. doi: 10.1002/hon.2155. Epub 2014 Sep 16.  
15
- 16 KOLOMEYEVSKAYA, N; ENG, KH; KHAN, AN; GRZANKOWSKI, KS; SINGEL, KL;  
17 MOYSICH, K; SEGAL, BH. Cytokine profiling of ascites at primary surgery identifies an  
18 interaction of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 in predicting reduced progression-free  
19 survival in epithelial ovarian cancer. Gynecol Oncol. 2015 Aug;138(2):352-7.  
20
- 21 KUMARI, N; DWARAKANATH, BS; DAS, A; BHATT, AN. Role of interleukin-6 in  
22 cancer progression and therapeutic resistance. Tumour Biol. 2016, 37(9):11553-11572.  
23
- 24 KURMAN, RJ; SHIH, I. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer – a  
25 proposed unifying theory. Am J Surg Pathol. 2010 Mar; 34(3): 433-443.

- 1 KURMAN, RJ; SHIH, I. Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial  
2 ovarian cancer-shifting the paradigm. *Hum Pathol.* 2011 Jul;42(7):918-31.  
3
- 4 LIAO WEI LIN, J-X; LEONARD, WJ. IL-2 Family Cytokines: New Insights into the  
5 Complex Roles of IL-2 as a Broad Regulator of T Helper Cell Differentiation. *Current*  
6 *Opinion in Immunology* 23.5 (2011): 598–604. PMC. Web. 21 Mar. 2017.  
7
- 8 LIU, CZ; ZHANG, L; CHANG, XH; CHENG, YX; CHENG, HY; YE, X; FU, TY; CHEN, J;  
9 CUI, H. Overexpression and immunosuppressive functions of transforming growth factor 1,  
10 vascular endothelial growth factor and interleukin-10 in epithelial ovarian cancer. *Chin J*  
11 *Cancer Res.* 2012 Jun;24(2):130-7.  
12
- 13 MADHUSUDAN, S; MUTHURAMALINGAM, SR; BRAYBROOKE, JP; WILNER, S;  
14 KAUR, K; HAN, C; HOARE, S; BALKWILL, F; GANESAN, TS. Study of etanercept, a  
15 tumor necrosis factor-alpha inhibitor, in recurrent ovarian cancer. *J Clin Oncol.* 2005 Sep  
16 1;23(25):5950-9.  
17
- 18 MARTINS FILHO, A; JAMMAL, MP; CÔBO, EDE C; SILVEIRA, TP; ADAD,  
19 SJ; MURTA, EF; NOMELINI, RS. Correlation of cytokines and inducible nitric oxide  
20 synthase expression with prognostic factors in ovarian cancer. *Immunol Lett.* 2014 Mar-  
21 Apr;158(1-2):195-9. doi: 10.1016/j.imlet.2014.01.005. Epub 2014 Jan 18.  
22
- 23 MATIAS, BF; OLIVEIRA, TM; RODRIGUES, CM; ABDALLA, DR; MONTES, L.;  
24 MURTA, EFC; MICHELIN, MA. Influence of Immunotherapy with Autologous

- 1 Dendritic Cells on Innate and Adaptive Immune Response in Cancer. *Libertas*  
2 *Academica*. Julho/2013.  
3
- 4 MATSUO, K; HASEGAWA, K; YOSHINO, K; MURAKAMI, R; HISAMATSU, T;  
5 STONE, RL; PREVIS, RA; HANSEN, JM; IKEDA, Y; MIYARA, A; HIRAMATSU, K;  
6 ENOMOTO, T; FUJIWARA, K; MATSUMURA, N; KONISHI, I; ROMAN, LD; GABRA,  
7 H; FOTOPOULOU, C; SOOD, AK. Venous thromboembolism, interleukin-6 and survival  
8 outcomes in patients with advanced ovarian clear cell carcinoma. *Eur J Cancer*. 2015  
9 Sep;51(14):1978-88.  
10
- 11 MIELCZAREK-PALACZ, A; KONDERA-ANASZ, Z; SIKORA, J. Higher serum  
12 levels of tumour necrosis factor and its soluble receptors are associated with ovarian  
13 tumours. *Arch Med Sci*. 2012 Nov 9;8(5):848-53.  
14
- 15 MOORE, Keith L.. *Anatomia Orientada para a Prática Clínica*. 4ed. Rio de Janeiro:  
16 Guanabara Koogan, 2001.  
17
- 18 MURTA, EFC; NOMELINI, RS. Early diagnosis and predictors of malignancy in the  
19 evaluation of adnexal mass. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2006; 18:14-19.  
20
- 21 MURTA, EFC; SILVA, CS; GOMES, RAS; TAVARES-MURTA, BM; MELO, AL.  
22 Ultrasonographic criteria and tumor marker assay are good procedures for the diagnosis  
23 of ovarian neoplasia in preselected outpatients. *Eur J Gynaecol Oncol* 2004; 25:707-712.  
24

- 1 MURTA, E.F.C; ANDRADE, J.M; BIGHETTI, S. Aspectos epidemiológicos do câncer de  
2 ovário. *Jornal Brasileiro de Ginecologia*. v.105, n.6, p.269-274, 1995.
- 3
- 4 MUSTEA, A; BRAICU, EI; KOENSGEN, D; YUAN, S; SUN, PM; STAMATIAN, F;  
5 LICHTENEGGER, W; CHEN, FC; CHEKEROV, R; SEHOULI, J. Monitoring of IL-10 in  
6 the serum of patients with advanced ovarian cancer: results from a prospective pilot-study.  
7 *Cytokine*. 2009 Jan;45(1):8-11.
- 8
- 9 MUSTEA, A; KÖNSGEN, D; BRAICU, EI; PIRVULESCU, C; SUN, P; SOFRONI, D;  
10 LICHTENEGGER, W; SEHOULI, J. Expression of IL-10 in patients with ovarian carcinoma.  
11 *Anticancer Res*. 2006 Mar-Apr;26(2C):1715-8.
- 12
- 13 NISHIO, H; YAGUCHI, T; SUGIYAMA, J; SUMIMOTO, H; UMEZAWA, K; IWATA, T;  
14 SUSUMU, N; FUJII, T; KAWAMURA, N; KOBAYASHI, A; PARK, J; AOKI, D;  
15 KAWAKAMI, Y. Immunosuppression through constitutively activated NF- $\kappa$ B signalling in  
16 human ovarian cancer and its reversal by an NF- $\kappa$ B inhibitor. *Br J Cancer*. 2014 Jun  
17 10;110(12):2965-74.
- 18
- 19 PADILLA, LA; RADOSEVICH, DM; MILAD, MP. Limitations of the pelvic examination  
20 for evaluation of the female pelvic organs. *Int J Gynaecol Obstet*. 2005 Jan;88(1):84-8.
- 21
- 22 PINCIROLI, P; ALBERTI, C; SENSI, M; CANEVARI, S; TOMASSETTI, A. An IL6-  
23 correlated signature in serous epithelial ovarian cancer associates with growth factor response.  
24 *BMC Genomics*. 2013, 14:508.
- 25

- 1 PIVER, MS; BARLOW, JJ; LELE, SB. Incidence of subclinical metastasis in stage I and II  
2 ovarian carcinoma. *Obstet Gynecol.* 1978 Jul;52(1):100-4.  
3
- 4 POLAT, M; SENOL, T; OZKAYA, E; OGURLU PAKAY, G; CIKMAN, MS;  
5 KONUKCU, B; OZTEN, MA; KARATEKE, A. Neutrophil to lymphocyte and platelet  
6 to lymphocyte ratios increase in ovarian tumors in the presence of frank stromal  
7 invasion. *Clin Transl Oncol.* 2016;18(5):457-63. proposed unifying theory. *Am J*  
8 *SurgPathol.* 2010 Mar;34(3):433-43.  
9
- 10 REZAEIFARD, S; RAZMKHAH, M; ROBATI, M; MOMTAHAN, M; Abbas  
11 Ghaderi<sup>1</sup>, Cytokines, Chemokines, and Chemokine Receptors Quantitative Expressions  
12 in Patients with Ovarian Cancer. 2, PhD. *IJMS*, vol 40. N.3. 2015.  
13
- 14 ROBBINS & COTRAN, *Fundamentos de Patologia.* 2012. 8<sup>a</sup> Edição. Editora:  
15 Guanabara Koogan.  
16
- 17 RODRIGUES, CM; MATIAS, BF; MURTA, EFC; MICHELIN, MA. The Role of T  
18 Lymphocytes in Cancer Patients Undergoing Immunotherapy with Autologous  
19 Dendritic Cells. *Clinical Medicine Insights: Oncology* 2011;5 107–115  
20
- 21 RUBIN, SC. Surgery for ovarian cancer. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1992 Aug;  
22 6(4):851-65.  
23
- 24 SASI, SP; BAE, S; SONG, J; PEREPLETCHIKOV, A; SCHNEIDER, D; CARROZZA, J;  
25 YAN, X, KISHORE, R; ENDERLING, H; GOUKASSIAN, DA. Therapeutic non-toxic doses

- 1 of TNF induce significant regression in TNFR2-p75 knockdown Lewis lung carcinoma tumor  
2 implants, PLoS One 9(2014) e92373.
- 3
- 4 SIEGEL, RL; MILLER, KD; JEMAL, A. Cancer statistics, 2017. CA Cancer, J. Clin. 2017,  
5 67(1):7-30.
- 6
- 7 SINGH, M; LOFTUS, T; WEBB, E; BENENCIA, F. Minireview: Regulatory T Cells and  
8 Ovarian Cancer. Immunol Invest. 2016, 45(8):712-720.
- 9
- 10 SOUZA, AEN; ESMERALDO, MIDB; ARAÚJO, VRD; SILVA, JRV. Alterações na  
11 expressão de genes para citocinas, fatores de crescimento e seus receptores estão  
12 associadas com as neoplasias epiteliais ovarianas.. Medicina (Ribeirão Preto)  
13 2012;45(4): 419-27. <http://revista.fmrp.usp.br>
- 14
- 15 STRONACH, EA; CUNNEA, P; TURNER, C; GUNEY, T; AIYAPPA, R; JEYAPALAN, S;  
16 DE SOUSA, CH; BROWNE, A; MAGDY, N; STUDD, JB; SRIRAKSA, R; GABRA, H; EL-  
17 BAHRAWY, M. The role of interleukin-8 (IL-8) and IL-8 receptors in platinum response in  
18 high grade serous ovarian carcinoma. Oncotarget. 2015, 6(31):31593-603.
- 19
- 20 STURGEON, C. Practice guidelines for tumor marker use in the clinic. Clin Chem. 2002  
21 Aug;48(8):1151-9.
- 22
- 23 SZPUREK, D; MOSZYNSKI, R; ZIETKOWIAK, W; SPACZYNSKI, M; SAJDAK, S. An  
24 ultrasonographic morphological index for prediction of ovarian tumor malignancy. Eur J  
25 Gynaecol Oncol. 2005;26(1):51-4.

- 1 TAVARES-MURTA, BM; CUNHA, F; MIRANDA, RQ; ADAD, S.J; MURTA, EFC.  
2 Differential tumor microenvironment in human ovarian cystic tumors. *Tumori* 90:  
3 491-497, 2004  
4
- 5 TAVASSOLI, FA; DEVILEE, P. Tumours of the breast and female genital organs.  
6 Editora Iarc Press, 2003:113-197. Lyon, França.  
7
- 8 TIMMERMAN, D; TESTA, AC; BOURNE, T; AMEYE, L; JURKOVIC, D; VAN  
9 HOLSBEKE, C; PALADINI, D; VAN CALSTER, B; VERGOTE, I; VAN HUFFEL, S;  
10 VALENTIN, L. Simple ultrasound-based rules for the diagnosis of ovarian cancer.  
11 *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008 Jun;31(6):681-90. doi: 10.1002/uog.5365.  
12
- 13 TUNG, KH; WILKENS, LR; WU, AH; MCDUFFIE, K; NOMURA, AM; KOLONEL,  
14 LN; TERADA, KY; GOODMAN, MT. Effect of anovulation factors on pre- and  
15 postmenopausal ovarian cancer risk: revisiting the incessant ovulation hypothesis. *Am J*  
16 *Epidemiol.* 2005 Feb 15;161(4):321-9.  
17
- 18 VITALE, RF; RIBEIRO, FAQ. O papel do Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF-alfa)  
19 no processo de erosão óssea presente no colesteatoma adquirido da orelha média. *Rev.*  
20 *Bras. Otorrinolaringol., São Paulo* , v. 73, n. 1, p. 123-127, Feb. 2007.  
21
- 22 WANG, P; WANG, J; YU, M; LI, Z. Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  T-857C (rs1799724)  
23 Polymorphism and Risk of Cancers: A Meta-Analysis. *Dis Markers.*  
24 2016;2016:4580323. doi: 10.1155/2016/4580323. Review. PubMed PMID: 28115787.  
25



- 1 WANG, Y; LI, L; GUO, X; JIN, X; SUN, W; ZHANG, X; XU, RC. Interleukin-6 signaling  
2 regulates anchorage-independent growth, proliferation, adhesion and invasion in human  
3 ovarian cancer cells. *Cytokine*. 2012 Aug;59(2):228-36.
- 4
- 5 WANG, Y; XU, RC; ZHANG, XL; NIU, XL; QU, Y; LI, LZ; MENG, XY. Interleukin-8  
6 secretion by ovarian cancer cells increases anchorage-independent growth, proliferation,  
7 angiogenic potential, adhesion and invasion. *Cytokine*. 2012, 59(1):145-55.
- 8
- 9 WEN, W; LIANG, W; WU, J; KOWOLIK, CM; BUETTNER, R; SCUTO, A; HSIEH, MY;  
10 HONG, H; BROWN, CE; FORMAN, SJ; HORNE, D; MORGAN, R; WAKABAYASHI, M;  
11 DELLINGER, TH; HAN, ES; YIM, JH; JOVE, R. Targeting JAK1/STAT3 signaling  
12 suppresses tumor progression and metastasis in a peritoneal model of human ovarian cancer.  
13 *Mol Cancer Ther*. 2014 Dec;13(12):3037-48.
- 14
- 15 WHITTEMORE, AS; HARRIS, R; ITNYRE, J; HALPERN, J. Characteristics relating to  
16 ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies. I. Methods.  
17 Collaborative Ovarian Cancer Group. *Am J Epidemiol*. 1992 Nov 15;136(10):1175-83.  
18 PMID: 1476140
- 19
- 20 XIE, K. Interleukin-8 and human cancer biology. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2001,  
21 12:375-391.
- 22
- 23 XU, L; FIDLER, IJ. Acidic pH-induced elevation in interleukin 8 expression by human  
24 ovarian carcinoma cells. *Cancer Res*. 2000 Aug 15;60(16):4610-6.
- 25

1 YANAIHARA, N; HIRATA, Y; YAMAGUCHI, N; NOGUCHI, Y; SAITO, M; NAGATA,  
2 C; TAKAKURA, S; YAMADA, K; OKAMOTO, A. Antitumor effects of interleukin-6 (IL-  
3 6)/interleukin-6 receptor (IL-6R) signaling pathway inhibition in clear cell carcinoma of the  
4 ovary. *Mol Carcinog.* 2016 May;55(5):832-41.

5

6 YU, SH; ZHENG, Q; ESOP, D; MACGREGOR-DAS, A; LUO, J; ANTONARAKIS, ES;  
7 DRAKE, CG; VESSELLA, R; MORRISSEY, C; DE MARZO, AM; SFANOS, KS. A  
8 Paracrine Role for IL6 in Prostate Cancer Patients: Lack of Production by Primary or  
9 Metastatic Tumor Cells. *Cancer Immunol Res.* 2015, 3(10):1175-84.

10

11 ZEPPERNICK, F; MEINHOLD-HEERLEIN, I. The new FIGO staging system for  
12 ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer. *Arch Gynecol Obstet* 2014; 290:  
13 839–842.

14

15 ZOU, M; ZHANG, X; XU, C. IL6-induced metastasis modulators p-STAT3, MMP-2 and  
16 MMP-9 are targets of 3,3'-diindolylmethane in ovarian cancer cells. *Cell Oncol (Dordr).* 2016  
17 Feb;39(1):47-57.

18

19

20

21

22

23

24

25

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15
- 16
- 17
- 18
- 19
- 20
- 21
- 22
- 23
- 24
- 25

**10 ANEXOS**

1                   **10.1 ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E**

2   **ESCLARECIDO**

3

4                   TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE, APÓS ESCLARECIMENTO.

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

7   Eu,

8   .....,

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

16

17   Uberaba, ...../ ...../.....

18

19   \_\_\_\_\_

20   Assinatura do voluntário ou seu responsável legal

\_\_\_\_\_ Documento de identidade

21   \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

22   Assinatura do pesquisador responsável

Assinatura do pesquisador orientador

23

24   Telefone de contato da paciente: \_\_\_\_\_

25   Telefone de contato dos pesquisadores: 34-3318-5326

**10.2 ANEXO B – APROVAÇÃO PELO CEP**

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25

**EM ANEXO NA PRÓXIMA PÁGINA**