

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 30/09/2021.

unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (GENÉTICA)

**EFEITO DOS SESQUITERPENOS α -HUMULENO E
 β -CARIOFILENO SOBRE LINHAGENS CELULARES
DERIVADAS DE CARCINOMAS MAMÁRIOS**

BARBARA MITSUYASU BARBOSA

BOTUCATU - SP

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (GENÉTICA)

**EFEITO DOS SESQUITERPENOS α -HUMULENO E
 β -CARIOFILENO SOBRE LINHAGENS CELULARES
DERIVADAS DE CARCINOMAS MAMÁRIOS**

BARBARA MITSUYASU BARBOSA

ORIENTADORA: Profa. Dra. Cláudia Aparecida Rainho

COORIENTADORA: Dra. Magda Massae Hata Viveiros

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, UNESP, Campus de
Botucatu, como requisito para a
obtenção do título de Mestre em
Ciências Biológicas (Genética).

BOTUCATU – SP

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Barbosa, Barbara Mitsuyasu.

Efeito dos sesquiterpenos α -humuleno e β -cariofileno sobre linhagens celulares derivadas de carcinomas mamários / Barbara Mitsuyasu Barbosa. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Cláudia Aparecida Rainho

Coorientador: Magda Massae Hata Viveiros

Capes: 20205007

1. Mamas - Câncer. 2. Terpenos. 3. Expressão gênica.

Palavras-chave: CXCL8; Câncer de mama triplo negativo; Expressão gênica; IL-8; Terpenos.

DEDICATÓRIA /

Aos meus pais, Tereza e Geraldo, que sempre apoiaram minhas escolhas.

Amo vocês.

AGRADECIMENTOS /

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Dra. Cláudia Aparecida Rainho pela excelente orientação e dedicação. Obrigada por todo suporte oferecido para que eu pudesse mostrar minha melhor versão, além disso, obrigada por se importar além da minha formação acadêmica e se importar com meu estar.

À minha coorientadora Dra. Magda Massae Hata Viveiros, cujo conhecimento foi de grande importância para o desenvolvimento do meu trabalho. Obrigada por sempre ser simpática e se preocupar comigo.

À Prof. Dra. Silvana Artioli Schellini, a qual foi de extrema importância para que meu trabalho pudesse ser realizado.

Às Profa. Dra. Ester Silveira Ramos e Dra. Flavia Faldoni, que dedicaram seu tempo para participar da minha banca de defesa. Obrigada pela presença nesse momento de grande importância em minha vida e pela contribuição com o conhecimento de vocês.

Ao programa de Pós-Graduação Ciências Biológicas (Genética) por todo o auxílio prestado.

A todos os funcionários e docentes do Departamento de Genética do Instituto de Biociências (UNESP, Botucatu) cujo trabalho facilitaram o desenvolvimento de minha pesquisa.

Ao CNPq pela bolsa de estudos concedida.

À minha família, em especial minha mãe Tereza, meu pai Geraldo e minha irmã Michele.

A todos com quem compartilhei o laboratório de Epigenética, que além de compartilharem o mesmo amor pela ciência comigo, também ajudaram a tornar os momentos difíceis mais agradáveis.

Às meninas da República Éssakana, que além de serem como irmãs para mim, me acolheram quando eu não tinha onde ficar no início do mestrado.

A todos meus amigos que torceram por mim e se mostraram animados com minha pesquisa, em especial Mariana (Coloral), Kim, Paula, Pedro.

ABSTRACT /

ABSTRACT

Breast cancer is the most common type of cancer amongst women. Worldwide, its incidence is estimated to increase in the coming decades. Triple negative breast cancer (TNBC) is a subtype defined by the absence of receptors for estrogen and progesterone hormones and without HER-2 overexpression. It usually occurs in women under 50 years old and it is related to a high recurrence and mortality rates. As conventional therapies are hormone-dependent or target HER2, TNBC are not responsive to these therapeutic approaches. Due to the biology of this tumor, new targets are needed for its treatment. Plants are important sources of antitumor compounds, the sesquiterpenes α -humulene (HUM) and β -caryophyllene (CAR) are usually present together in the essential oil of several plants. Few studies have been conducted on their effect in breast cancer cells, but an immunomodulatory effect of different sesquiterpenes was described on human cancer cells. The hypothesis of this study is that the *in vitro* effects of sesquiterpenes HUM and CAR on cell lines derived from TNBC are mediated by changes in cytokine expression levels produced by tumor cells. For this, four triple-negative cell lines were selected (BT-20, BT-549, MDA-MB-231, and MDA-MB-436). Initially, the isolated or combined effects of HUM and CAR were evaluated by the MTT cell viability assay upon different concentrations (6.25, 12.5, 25, 50, and 100 μ M), after 24, 48, 72, and 96 hours of exposure. Based on the effect of the sesquiterpenes treatment in cell viability, the BT-20 cell line was chosen for the subsequent experiments. Cell migration was evaluated by scratch assay and relative expression levels of the gene *CXCL8* were determined by quantitative real-time RT-PCR. The sesquiterpenes HUM and CAR have poor cytotoxic potential on triple-negative breast cancer cells and no effects on the migration of BT-20 cells. In addition, α -humulene was able to increase the

transcriptional levels of the gene *CXCL8*, encoding IL-8. Since this chemokine has been associated with tumor-promoting activities, our findings suggest that these sesquiterpenes are not useful for new therapeutic strategies of cancer.

RESUMO /

RESUMO

O carcinoma mamário é o tipo de câncer mais frequente entre as mulheres, com estimativas de aumento de sua incidência mundial nas próximas décadas. O câncer de mama triplo negativo (CMTN) é um subtipo definido pela falta de receptores para os hormônios estrógeno e progesterona e sem superexpressão de HER-2. Ocorre geralmente em mulheres com menos de 50 anos e está relacionado a uma alta taxa de recorrência e mortalidade. As terapias convencionais são hormônio-dependentes ou possuem a proteína HER2 como alvo, logo o CMTN não é responsivo a essas modalidades terapêuticas. Devido a biologia deste tumor, novas abordagens são necessárias para o seu tratamento. Plantas são importantes fontes de compostos antitumorais. Os sesquiterpenos α -humuleno (HUM) e β -cariofileno (CAR) geralmente estão presentes em conjunto no óleo essencial de diversas plantas. Um número limitado de estudos foi realizado sobre os seus efeitos em células derivadas de carcinomas mamários, porém um efeito imunomodulador foi descrito para diferentes sesquiterpenos em células derivadas de cânceres humano. A hipótese desse estudo é que os efeitos *in vitro* dos sesquiterpenos HUM e CAR nas linhas celulares derivadas de CMTN são mediados por alterações nos níveis de expressão de citocinas produzidas pelas células tumorais. Foram selecionadas quatro linhagens celulares triplo-negativas (BT-20, BT-549, MDA-MB-231 e MDA-MB-436). Inicialmente, os efeitos isolados ou combinados do HUM e CAR foram avaliados pelo ensaio de viabilidade celular pelo teste de MTT em diferentes concentrações (6,25; 12,5; 25; 50 e 100 μ M), após 24, 48, 72 e 96 horas de exposição. Com base nos resultados, a linhagem celular BT-20 foi selecionada para os experimentos subsequentes. A proliferação e migração celular foi avaliada pelo *scratch assay* e os níveis relativos de expressão do gene *CXCL8* foram

determinados por RT-PCR quantitativa em tempo real. Os sesquiterpenos HUM e CAR têm baixo potencial citotóxico nas linhagens derivadas de CMTNs e nenhum efeito na migração das células BT-20. Além disso, o α -humuleno foi capaz de aumentar os níveis de transcrição do gene *CXCL8*, que codifica IL-8, nessa linhagem celular. Como essa quimiocina foi associada a atividades de promoção de tumores, nossos resultados sugerem que esses sesquiterpenos não são úteis para as novas estratégias terapêuticas do câncer.

SUMÁRIO /

SUMÁRIO

1. REVISÃO DA LITERATURA	1
1.1. CÂNCER DE MAMA	1
1.2. TERAPIAS ALTERNATIVAS COMPLEMENTARES	6
1.3. INFLAMAÇÃO E CÂNCER	8
1.4. CITOCINAS E CÂNCER	9
1.5. REFERÊNCIAS	13
2. OBJETIVOS	23
2.1. OBJETIVO GERAL	23
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
3. MANUSCRITO	24
4. CONCLUSÕES	63

REVISÃO DA LITERATURA



1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1. CÂNCER DE MAMA

A incidência e mortalidade do câncer vem aumentando nas últimas décadas. Segundo dados da GLOBOCAN, em 2018 houve 18,1 milhões de novos casos de câncer, além de 9,6 milhões de mortes. Estima-se que em 2040 haverá 29,5 milhões de novos casos no mundo. O segundo câncer mais comum, e o mais frequente entre as mulheres, é o câncer de mama, que representa 11,6% de todos os cânceres diagnosticados em 2018 e a quinta causa de morte por câncer, sendo a causa mais frequente entre mulheres (GLOBOCAN, 2018).

No Brasil, é o segundo câncer mais comum entre as mulheres, ficando atrás apenas do de pele não melanoma, representando 30,5% dos novos casos em 2018. Considerando-se um período de 5 anos após o diagnóstico, 720 mil mulheres estarão vivendo com a doença no país (GLOBOCAN, 2018). Para o biênio 2018-2019, estima-se o risco em 56,33 a cada 100 mil mulheres (INCA, 2018a). A incidência de câncer de mama em homens representa 1% do total de novos casos (INCA, 2018b).

O câncer de mama é uma doença complexa e heterogênea considerando-se os parâmetros moleculares, histológicos e clínicos. O progresso das pesquisas científicas nas últimas décadas contribuiu para aumentar a compreensão do câncer de mama: atualmente sabe-se que o comportamento agressivo e a resposta à terapia estão relacionados à biologia tumoral (Rakha e Green, 2017). Clinicamente, a doença apresenta-se heterogênea, tanto na resposta ao tratamento quanto ao tempo de sobrevivência livre da doença (Ambrosone, Hong e Goodwin, 2015).

Na prática, os principais preditores do comportamento tumoral são aqueles relacionados às características clínico-patológicas, incluindo o estadiamento clínico, o tipo histológico, o grau do tumor, o índice de proliferação e invasão linfovascular. O sistema de estadiamento clínico denomina-se Tumor-Nódulo-Metástase (TNM) – o parâmetro T descreve o tumor primário e sua localização; o parâmetro N informa a presença de células tumorais em linfonodos axilares; e o parâmetro M, a presença ou ausência de metástases e sua distância do tumor primário (UICC, 2019). As categorias são graduadas (de T0 a T4, de N0 a N3 e de M0 a M1) e agrupadas em combinações pré-estabelecidas para classificar o tumor de I a IV, os estádios podem ter uma subcategoria (A ou B) para identificar o nível de evolução tumoral. Esta classificação implica que, provavelmente, os tumores com o mesmo estágio apresentam evolução clínica, resposta terapêutica e prognóstico semelhantes (INCA, 2019).

Quando o câncer de mama é detectado em fases iniciais, as chances de tratamento menos agressivo e de cura são maiores (INCA, 2018b), pois estádios avançados da doença exigem abordagem múltipla devido à dificuldade do tratamento (Oakman *et al.*, 2010). No Brasil, possivelmente devido ao diagnóstico tardio da doença, aproximadamente 40% das mulheres com câncer de mama estão em um estágio avançado da doença (III e IV) e, portanto, apresentam pior prognóstico (Cecilio *et al.*, 2015).

Os marcadores moleculares atualmente utilizados no diagnóstico e prognóstico de pacientes com câncer de mama são os receptores hormonais de estrogênio (ER) e de progesterona (PR), ambos associados a tumores de baixo grau histológico; o antígeno nuclear Ki-67, um marcador de proliferação celular; e o nível de expressão

do receptor codificado pelo proto-oncogene *HER-2* (*erb-b2 receptor tyrosine kinase 2*) (Pusztai, 2006; Inwald *et al.*, 2015).

Devido a heterogeneidade do câncer de mama, métodos de classificação precisaram ser desenvolvidos para facilitar o estudo e planejamento do tratamento deste. Uma das primeiras classificações criadas utiliza imuno-histoquímica para detectar marcadores celulares, com base nos resultados o câncer de mama é dividido em três grupos principais: i) hormônio sensível – tumores que possuem receptores para os hormônios estrógeno e/ou progesterona; ii) HER2 – superexpressam o receptor HER-2; iii) triplo-negativo (TN) – definido pela falta de receptores para os hormônios estrógeno e progesterona e sem superexpressão/amplificação de HER-2 (Engebraaten, Vollan e Børresen-Dale, 2013; Uscanga-Perales, Santuario-Facio e Ortiz-López, 2016).

O câncer de mama TN é um subtipo de câncer de mama que ocorre geralmente em mulheres com menos de 50 anos. Este subtipo está relacionado a uma alta taxa de recorrência e mortalidade, e apesar de representar uma minoria de casos de câncer de mama (entre 15 e 20%), ele é responsável por um grande número de mortes por essa doença (Oakman *et al.*, 2010).

As terapias convencionais para câncer de mama são hormônio-dependentes ou HER2-alvo. Essas modalidades terapêuticas não são eficazes contra o câncer de mama TN, visto que esse subtipo molecular independe de hormônios estrógeno e progesterona ou HER2 exacerbada para se desenvolver. Novos alvos são necessários para que a terapia usada contra o câncer de mama TN possa ser mais efetiva (Anders e Carey, 2008; Engebraaten, Vollan e Børresen-Dale, 2013).

Com o desenvolvimento de plataformas genômicas, as detecções de marcadores celulares por imuno-histoquímica foram completadas pela tecnologia de

microarranjos de DNA complementar (cDNA) (Uscanga-Perales, Santuario-Facio e Ortiz-López, 2016) que avaliam o perfil de expressão de milhares de genes simultaneamente. Com o detalhamento do perfil de expressão gênica no câncer, foi possível definir quatro subgrupos intrínsecos com base no perfil diferencial de expressão gênica: i) luminal A (lumA), grupo caracterizado por tumores ER e/ou PR positivos e negativos para HER2 com baixo índice de proliferação; ii) luminal B (lumB), tumores ER positivo com pouca ou nenhuma expressão de PR, alta taxa de proliferação celular e, ocasionalmente, expressão aumentada de HER2; iii) *Her2-enriched*, grupo caracterizado pela alta expressão do receptor HER2, porém negativos para ER e PR e iv) *basal-like*, tumores ER, PR e HER2 negativos (Rakha *et al.*, 2010; Inwald *et al.*, 2015). Além dos subtipos moleculares diferirem na incidência, prognóstico e resposta ao tratamento, eles também apresentam perfil distinto de alterações genômicas, padrões de mutação e alterações epigenéticas (Abdel-Hafiz e Horwitz, 2015; Györfy *et al.*, 2016).

Apesar do câncer de mama TN e basal-like estarem associados a pior prognóstico e serem mais frequentes em mulheres afrodescendentes, eles não são biologicamente sinônimos. Entre 50-75% dos cânceres de mama TN são basal-like, e aproximadamente 80% de tumores basal-like são TN (Garrido-Castro, 2019).

A classificação PAM50 (*Prediction Analysis of Microarray 50*) é um modelo que utiliza a reação em cadeia polimerase por transcriptase reversa quantitativa e um *microarray* contendo 50 genes em uma amostra tumoral para melhorar a estratificação prognóstica de pacientes com câncer de mama e prever a efetividade da quimioterapia. Esse modelo de risco incorpora os subtipos intrínsecos do câncer de mama e com base nos resultados desse teste genético classifica-se o tumor em lumA, lumB, *Her2-enriched* e *basal-like*. Além da classificação molecular

do tumor, a PAM50 também prevê o risco de metástase através de um *score* numérico (quanto maior seu valor, maior o risco de metástase) (Parker *et al.*, 2009).

1.2. TERAPIAS ALTERNATIVAS COMPLEMENTARES

O uso de terapias alternativas complementares é uma prática comum entre pacientes com câncer (Shneerson *et al.*, 2013), sendo relatado de forma mais pronunciada entre mulheres com câncer de mama: estima-se que entre 60-80% das pacientes usam no mínimo um tipo de terapia alternativa e entre 25% a 60% usam compostos alternativos, pela via oral, na busca de alívio dos sintomas relacionados à doença e aos efeitos colaterais do tratamento tradicional, além de melhoria da qualidade de vida, bem-estar físico e emocional (Boon *et al.*, 1999). As terapias alternativas complementares são principalmente utilizadas como adjuvantes aos protocolos de quimio e/ou radioterapia convencionais, com ou sem a recomendação dos seus médicos. Entre os oncologistas, o seu uso é visto com cautela, pois para a maioria delas não existe evidências científicas comprovando os seus benefícios e tampouco controle sobre os riscos de possíveis interações entre drogas. Este fato demonstra a necessidade de dados científicos qualificados (SAMANO *et al.*, 2005). No Brasil, um estudo recente de base hospitalar com mulheres com câncer de mama avançado, indicou que compostos de origem biológica são os mais comumente auto prescritos e potencialmente associados a ganhos na qualidade de vida (Alfano *et al.*, 2014).

Em paralelo, e devido ao aumento de incidência e mortalidade de cânceres no mundo, vários estudos para desenvolvimento de drogas antitumorais têm sido conduzidos (Sarvmeili, Jafarian-Dehkordi e Zolfaghari, 2016). As plantas são importantes fontes de compostos antitumorais que estão sendo usados como forma de tratamento de tumores há anos (Cragg e Newman, 2005). Podemos citar como exemplo de compostos isolados de plantas utilizados para o tratamento de câncer a

vincristina, vimblastina e paclitaxel. Existe também drogas que não foram isoladas de plantas, mas que foram desenvolvidas com base em compostos isolados de plantas, como é o caso do topotecano e do irinotecano, duas drogas semi-sintéticas derivadas da camptotecina, um fármaco isolado de planta, que apresentou alta toxicidade no tecido normal da bexiga como efeito colateral (Kaur, Kapoor e Kaur, 2011).

O α -humuleno (HUM) e o β -cariofileno (CAR) são sesquiterpenos que geralmente estão presentes em conjunto no óleo essencial de diversas plantas. A exposição de HUM *in vitro* na linhagem celular Caco-2 derivada de células epiteliais de adenocarcinoma colorretal humano aumentou a secreção da citocina IL-8, sugerindo que o HUM possui um efeito imunomodulador (Satsu *et al.*, 2004). Segundo estudos, o CAR tem propriedades antioxidantes, antibacterianas (Choi *et al.*, 2013), antifúngicas (Jirovetz *et al.*, 2006), de proteção neural (Prashar, Locke e Evans, 2006) e efeito analgésico com baixa citotoxicidade (Fontenelle *et al.*, 2007). Alguns estudos avaliam o efeito desses compostos em conjunto e apresentam resultados positivos para o efeito antitumoral (Fernandes *et al.*, 2007; Selestino Neta *et al.*, 2017). Ainda não se tem muitas informações a respeito do mecanismo de ação desses compostos, mas o efeito antitumoral do cariofileno já foi apresentado tanto *in vitro* quanto *in vivo* na literatura (Legault e Pichette, 2007; Sung *et al.*, 2008). Estudos destes compostos no câncer de mama são escassos na literatura.

1.3. INFLAMAÇÃO E CÂNCER

O papel da inflamação no desenvolvimento do câncer foi descrito pela primeira vez em 1863 por Rudolf Virchow. Ao observar que células inflamatórias infiltram o tumor, esse pesquisador sugeriu que o câncer se origina a partir de sítios inflamatórios (Balkwill e Mantovani, 2001).

Apesar da inflamação ser uma resposta benéfica para restauração de tecidos lesionados e contra agentes patogênicos, se não for regulada ela pode se tornar crônica e induzir a transformação de células malignas nos tecidos adjacentes. Ambas, a resposta inflamatória e o processo carcinogênico, compartilham alvos moleculares e vias de sinalização, como a apoptose, aumento da taxa de proliferação e angiogênese (Landskron *et al.*, 2014).

A inflamação exerce um papel importante em várias etapas da carcinogênese, desde a iniciação tumoral até invasão e metástase. O microambiente tumoral contém células do sistema imune associadas a células neoplásicas, que se comunicam através da produção de citocinas, que são capazes de controlar e moldar o crescimento tumoral (Grivennikov, Greten e Karin, 2010).

O conhecimento dos fatores envolvidos na inflamação associada ao processo tumoral também é importante para tratar a doença. Apesar dos tratamentos de câncer geralmente envolver agentes citotóxicos e antiproliferativos em doses próximas à máxima tolerada com o objetivo de matar o maior número de células neoplásicas, algumas drogas tem um potencial efeito sobre a resposta imune do hospedeiro, como o taxol, que estimula macrófagos do sistema imune. Conforme mais conhecimento é obtido sobre a resposta imune induzida pelas próprias células tumorais e do mecanismo de escape das mesmas, tratamentos promissores com agentes imunomoduladores podem ser desenvolvidos (Mihich, 2000).

1.4. CITOCINAS E CÂNCER

Citocinas são glicoproteínas de baixo peso molecular que são rapidamente sintetizadas e secretadas por diversos tipos celulares após estimulação. Essas moléculas agem em células alvo adjacentes de forma aditiva, sinérgica ou antagonista. Citocinas são mediadores intercelulares que regulam o crescimento, sobrevivência e diferenciação celular (Nicolini, Carpi e Rossi, 2006).

O termo citocina, do grego *cito* que significa célula e *cininas* hormônios, foi introduzido pela primeira vez em 1974 por Stanley Cohen (Cohen, Bigazzi e Yoshida, 1974). Foi proposto para substituir o termo linfocina, introduzido no final dos anos 60 para identificar proteínas solúveis derivadas de linfócitos que possuíam efeitos imunológicos, já que os linfócitos não são a única fonte dessas proteínas. O sistema de nomenclatura interleucina (IL) foi proposto para simplificar a lista crescente de citocinas identificadas, porém essa nomenclatura causa confusão já que essas citocinas não atuam somente entre os leucócitos como o nome sugere, mas são expressas por muitos tipos celulares. Um exemplo da confusão dessa nomenclatura é o caso da interleucina-8, que é uma quimiocina e cujo gene codificador recebe o nome de *C-X-C motif chemokine ligand 8 (CXCL8)* (CAMERON e KELVIN, 2013).

As citocinas estão envolvidas na comunicação das células do sistema imunológico para gerar uma forte resposta coordenada e auto limitante contra um antígeno alvo. Embora muitas formas de comunicação do sistema imunológico ocorram através da interação célula-célula, a secreção de citocinas permite a rápida propagação da sinalização imune de maneira eficiente. Os efeitos individuais de cada citocina na imunidade dependem de vários fatores, incluindo a concentração,

padrão de expressão de seu receptor e a integração de múltiplas vias de sinalização que incluem as células imunes (Lee e Margolin, 2011).

As citocinas também são produzidas por células tumorais e estão envolvidas em uma rede com uma grande variedade de moléculas. Essa rede contém tanto citocinas pró como anti-inflamatórias, colaborando assim para o desenvolvimento e progressão do câncer, atuando como promotor ou inibidor do crescimento tumoral (Nicolini, Carpi e Rossi, 2006; Seruga *et al.*, 2008).

A imunoedição do câncer é um processo dinâmico através do qual o sistema imune tenta destruir as células tumorais, esse processo compreende três estágios: eliminação, equilíbrio e evasão. Durante o primeiro estágio, os tumores em progressão são destruídos antes que sinais clínicos possam aparecer. Já no segundo estágio, o mais longo de todos, as células tumorais que sobreviveram permanecem em quiescência. No fim, as células tumorais adquirem a capacidade de não serem identificadas e atacadas pelo organismo, sobrevivendo e se desenvolvendo no hospedeiro. As citocinas apresentam papel importante em todas as fases da imunoedição (Wang *et al.*, 2017).

Essencial ao processo neoplásico, o microambiente tumoral pode ser manipulado de forma positiva para o desenvolvimento do câncer pela inflamação crônica. As citocinas produzidas por células imunes inatas ativadas estimulam o crescimento e a progressão tumoral, sendo assim componentes importantes para esse microambiente. No entanto, células inflamatórias também liberam citocinas em resposta à inflamação, estas estimulam diretamente as células efetoras da imunidade e as células estromais no local do tumor, aumentando o reconhecimento das células tumorais por células efetoras citotóxicas, limitando assim o crescimento tumoral (Dranoff, 2004; Lin e Karin, 2007; Lee e Margolin, 2011).

O processo exato da iniciação do câncer de mama é desconhecido. Foi proposto que a inflamação tem um papel importante na iniciação, promoção, angiogênese e metástase de tumores mamários, processos nos quais as citocinas executam um papel importante (Esquivel-Velázquez *et al.*, 2015).

Estudos focados no microambiente tumoral de carcinomas mamários demonstraram que a inflamação está correlacionada com o aumento da invasividade e pior prognóstico dos pacientes, em especial a expressão das citocinas pró-inflamatórias interleucina-1 beta (IL1 β), interleucina-6 (IL6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF α) (Goldberg e Schwertfeger, 2010). Um estudo *in vivo* descreveu que a IL1 β é necessária no microambiente tumoral para que ocorra a angiogênese e invasão de variados tipos tumorais, incluindo o adenocarcinoma mamário (Voronov *et al.*, 2003).

C-X-C motif chemokine ligand 8, CXCL8, é o gene que codifica a citocina pró-inflamatória IL8, com 3,211 pares de bases de comprimento localizado em 4q13.3. Esse gene composto por 4 éxons tem 3.79kb de tamanho e possui 3 diferentes transcritos derivados de *splicing* alternativo. Codificada pelo gene CXCL8, a proteína *Interleukin-8* (IL8) é um homodímero composto por 99 aminoácidos e um grande mediador da resposta inflamatória. Além de ser um fator angiogênico, IL8 é também um fator quimiotático que atrai neutrófilos, basófilos e células T, mas não monócitos. É liberado por diversos tipos celulares em resposta ao estímulo inflamatório (Thierry-Mieg e Thierry-Mieg, 2006; Uhlén *et al.*, 2015; Stelzer *et al.*, 2016; Zerbino *et al.*, 2018).

A IL8 é uma das citocinas responsáveis pelo recrutamento e ativação de neutrófilos e granulócitos para o sítio da inflamação. No estado fisiológico, a IL8 é praticamente indetectável, mas ela aumenta rapidamente quando induzida por

citocinas pró inflamatórias como a interleucina-1 (IL1). A sinalização de IL8 influencia diretamente na sensibilidade a quimioterápicos das células tumorais, alterando os caminhos associados a apoptose e resistência ao fármaco (Liu *et al.*, 2016).

Um estudo encontrou níveis séricos de IL8 elevados em pacientes com câncer de mama quando comparados com mulheres saudáveis, correlacionando esses níveis diretamente com o estadiamento clínico do carcinoma mamário e um mau prognóstico (Benoy *et al.*, 2004). Outros estudos também correlacionaram níveis séricos (Culig, 2011) e plasmáticos (Hamed, Zakhary e Maximous, 2012) de IL8 com a progressão clínica, estadiamento clínico e mau prognóstico no câncer de mama.

A quimiocina inflamatória IL8 pertence ao subgrupo estrutural ELR+-CXC, que foi descrito como fator angiogênico altamente potente (Belperio *et al.*, 2000; Ben-Baruch, 2003). Essa citocina mostrou-se altamente expressa tanto pelas células tumorais como pelas células do estroma de carcinomas mamários; a expressão de *CXCL8*, gene que codifica a proteína IL8, exige a estimulação pelas citocinas inflamatórias *TNFA* ou *IL1B* em câncer de mama (Green *et al.*, 1997; Miller *et al.*, 1998; Larco, De *et al.*, 2001). Não foi possível correlacionar a IL8 com a progressão dos carcinomas mamários, porém sua expressão em linhagens celulares sugere que essa citocina exerce um papel no fenótipo metastático dessas células (Larco, De *et al.*, 2001; Ben-Baruch, 2003; Simeone *et al.*, 2007). Receptores de IL8 também foram detectados em células endoteliais (Miller *et al.*, 1998), além das células de carcinoma mamário, sugerindo que essa citocina tem um papel angiogênico nesse tipo de tumor (Ben-Baruch, 2003; Hamed, Zakhary e Maximous, 2012).

1.5. REFERÊNCIAS

- ABDEL-HAFIZ, H. A.; HORWITZ, K. B. Role of epigenetic modifications in luminal breast cancer. *Epigenomics*, v. 7, n. 5, p. 847–862, 2015.
- ALFANO, A. C. C.; PAIVA, C. E.; RUGNO, F. C.; SILVA, R. H. DA; PAIVA, B. S. R. Biologically based therapies are commonly self-prescribed by Brazilian women for the treatment of advanced breast cancer or its symptoms. *Supportive Care in Cancer*, v. 22, n. 5, p. 1303–1311, 2014.
- AMBROSONE, C. B.; HONG, C. C.; GOODWIN, P. J. Host factors and risk of breast cancer recurrence: genetic, epigenetic and biologic factors and breast cancer outcomes. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, v. 862, p. 143–153, 2015.
- ANDERS, C.; CAREY, L. A. Understanding and treating triple-negative breast cancer. *Oncology (Williston Park, N.Y.)*, v. 22, n. 11, p. 1233–9; discussion 1239-40, 1243, 2008.
- BALKWILL, F.; MANTOVANI, A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *The Lancet*, v. 357, n. 9255, p. 539–545, 2001.
- BELPERIO, J. A.; KEANE, M. P.; ARENBERG, D. A.; ADDISON, C. L.; EHLERT, J. E.; BURDICK, M. D.; STRIETER, R. M. CXCL chemokines in angiogenesis. *Journal of leukocyte biology*, v. 68, n. 1, p. 1–8, 2000.
- BEN-BARUCH, A. Host microenvironment in breast cancer development: inflammatory cells, cytokines and chemokines in breast cancer progression: reciprocal tumor-microenvironment interactions. *Breast cancer research : BCR*, v. 5, n. 1, p. 31–6, 2003.

- BENOY, I. H.; SALGADO, R.; DAM, P. VAN; GEBOERS, K.; MARCK, E. VAN; SCHARPÉ, S.; VERMEULEN, P. B.; DIRIX, L. Y. Increased Serum Interleukin-8 in Patients with Early and Metastatic Breast Cancer Correlates with Early Dissemination and Survival. *Clinical Cancer Research*, v. 10, n. 21, p. 7157–7162, 2004.
- BOON, H.; BROWN, J. B.; GAVIN, A.; KENNARD, ARY A.; STEWART, M. Breast Cancer Survivors' Perceptions of Complementary/Alternative Medicine (CAM): Making the Decision to Use or Not to Use. *Qualitative Health Research*, v. 9, n. 5, p. 639–653, 1999.
- CAMERON, M. J.; KELVIN, D. J. Cytokines, Chemokines and Their Receptors. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6294/>>.
- CECILIO, A. P.; TAKAKURA, E. T.; JUMES, J. J.; SANTOS, J. W. DOS; HERRERA, A. C.; VICTORINO, V. J.; PANIS, C. Breast cancer in Brazil: epidemiology and treatment challenges. *Breast cancer (Dove Medical Press)*, v. 7, p. 43–9, 2015.
- CHOI, I. Y.; JU, C.; ANTHONY JALIN, A. M. A.; LEE, D. I.; PRATHER, P. L.; KIM, W. K. Activation of cannabinoid CB2 receptor-mediated AMPK/CREB pathway reduces cerebral ischemic injury. *American Journal of Pathology*, 2013.
- COHEN, S.; BIGAZZI, P. E.; YOSHIDA, T. Similarities of T Cell Function In Cell-Mediated Immunity and Antibody Production. *IMMUNOLOGY. Cellular Immunology*, v.12, 1, p150-159, 1974.
- CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 100, n. 1–2, p. 72–79, 2005.
- CULIG, Z. Cytokine disbalance in common human cancers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, v. 1813, n. 2, p. 308–314, 2011.

- DRANOFF, G. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, v. 4, n. 1, p. 11–22, 2004.
- ENGEBRAATEN, O.; VOLLAN, H. K. M.; BØRRESEN-DALE, A.-L. Triple-Negative Breast Cancer and the Need for New Therapeutic Targets. *The American Journal of Pathology*, v. 183, n. 4, p. 1064–1074, 2013.
- ESQUIVEL-VELÁZQUEZ, M.; OSTOA-SALOMA, P.; PALACIOS-ARREOLA, M. I.; NAVA-CASTRO, K. E.; CASTRO, J. I.; MORALES-MONTOR, J. The role of cytokines in breast cancer development and progression. *Journal of interferon & cytokine research: the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*, v. 35, n. 1, p. 1–16, 2015.
- FERNANDES, E. S.; PASSOS, G. F.; MEDEIROS, R.; CUNHA, F. M. DA; FERREIRA, J.; CAMPOS, M. M.; PIANOWSKI, L. F.; CALIXTO, J. B. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. *European Journal of Pharmacology*, 2007.
- FONTENELLE, R. O. S.; MORAIS, S. M.; BRITO, E. H. S.; KERNTOPF, M. R.; BRILHANTE, R. S. N.; CORDEIRO, R. A.; TOMÉ, A. R.; QUEIROZ, M. G. R.; NASCIMENTO, N. R. F.; SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2007.
- GARRIDO-CASTRO, A. C.; LIN, N. U.; POLYAK, K. Insights into Molecular Classifications of Triple-Negative Breast Cancer: Improving Patient Selection for Treatment. *Cancer discovery*, v. 9, n. 2, p. 176–198, 2019.
- GLOBOCAN. Fact Sheets Cancer. Disponível em: <http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx>.

GOLDBERG, J. E.; SCHWERTFEGER, K. L. Proinflammatory cytokines in breast cancer: mechanisms of action and potential targets for therapeutics. *Current drug targets*, v. 11, n. 9, p. 1133–46, 2010.

GREEN, A. R.; GREEN, V. L.; WHITE, M. C.; SPEIRS, V. Expression of cytokine messenger RNA in normal and neoplastic human breast tissue: identification of interleukin-8 as a potential regulatory factor in breast tumours. *International journal of cancer*, v. 72, n. 6, p. 937–41, 1997.

GRIVENNIKOV, S. I.; GRETEN, F. R.; KARIN, M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*, v. 140, n. 6, p. 883–99, 2010.

GYÓRFFY, B.; BOTTAI, G.; FLEISCHER, T.; MUNKÁCSY, G.; BUDCZIES, J.; PALADINI, L.; BØRRESEN-DALE, A.-L.; KRISTENSEN, V. N.; SANTARPIA, L. Aberrant DNA methylation impacts gene expression and prognosis in breast cancer subtypes. *International Journal of Cancer*, v. 138, n. 1, p. 87–97, 2016.

HAMED, E. A.; ZAKHARY, M. M.; MAXIMOUS, D. W. Apoptosis, angiogenesis, inflammation, and oxidative stress: basic interactions in patients with early and metastatic breast cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, v. 138, n. 6, p. 999–1009, 2012.

INCA. Estimativa 2018 - Síntese de Resultados e Comentários. 2018a. Disponível em: [<http://www.inca.gov.br/estimativa/2018/sintese-de-resultados-comentarios.asp>](http://www.inca.gov.br/estimativa/2018/sintese-de-resultados-comentarios.asp).

INCA. A mulher e o câncer de mama no Brasil. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva [cartilha] - 2018b.

INCA. Estadiamento. 2019. Disponível em: [<http://www1.inca.gov.br/impressao.asp?op=cv&id=54>](http://www1.inca.gov.br/impressao.asp?op=cv&id=54).

INWALD, E. C.; KOLLER, M.; KLINKHAMMER-SCHALKE, M.; ZEMAN, F.; HOFSTÄDTER, F.; GERSTENHAUER, M.; BROCKHOFF, G.; ORTMANN, O. 4-IHC classification of breast cancer subtypes in a large cohort of a clinical cancer registry: use in clinical routine for therapeutic decisions and its effect on survival. *Breast Cancer Research and Treatment*, v. 153, n. 3, p. 647–658, 2015.

JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; STOILOVA, I.; STOYANOVA, A.; KRASTANOV, A.; SCHMIDT, E. Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006.

KAUR, R.; KAPOOR, K.; KAUR, H. Plants as a source of anticancer agents. *J. Nat. Prod. Plant Resour*, v. 1, n. 1, p. 119–124, 2011.

LANDSKRON, G.; LA FUENTE, M. DE; THUWAJIT, P.; THUWAJIT, C.; HERMOSO, M. A. Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *Journal of immunology research*, v. 2014, p. 149185, 2014.

LARCO, J. E. DE; WUERTZ, B. R. K.; ROSNER, K. A.; ERICKSON, S. A.; GAMACHE, D. E.; MANIVEL, J. C.; FURCHT, L. T. A Potential Role for Interleukin-8 in the Metastatic Phenotype of Breast Carcinoma Cells. *The American Journal of Pathology*, v. 158, n. 2, p. 639–646, 2001.

LEE, S.; MARGOLIN, K. Cytokines in Cancer Immunotherapy. *Cancers*, v. 3, n. 4, p. 3856–3893, 2011.

LEGAULT, J.; PICHETTE, A. Potentiating effect of β -caryophyllene on anticancer activity of α -humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2007.

LIN, W.-W.; KARIN, M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *The Journal of clinical investigation*, v. 117, n. 5, p. 1175–83, 2007.

- LIU, Q.; LI, A.; TIAN, Y.; WU, J. D.; LIU, Y.; LI, T.; CHEN, Y.; HAN, X.; WU, K. The CXCL8-CXCR1/2 pathways in cancer. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 2016.
- MILLER, L. J.; KURTZMAN, S. H.; WANG, Y.; ANDERSON, K. H.; LINDQUIST, R. R.; KREUTZER, D. L. Expression of interleukin-8 receptors on tumor cells and vascular endothelial cells in human breast cancer tissue. *Anticancer research*, v. 18, n. 1A, p. 77–81, 1998.
- MILLER, L. J.; KURTZMAN, S. H.; ANDERSON, K.; WANG, Y.; STANKUS, M.; RENNA, M.; LINDQUIST, R.; BARROWS, G.; KREUTZER, D. L. Interleukin-1 family expression in human breast cancer: interleukin-1 receptor antagonist. *Cancer investigation*, v. 18, n. 4, p. 293–302, 2000.
- NICOLINI, A.; CARPI, A.; ROSSI, G. Cytokines in breast cancer. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, v. 17, n. 5, p. 325–337, 2006.
- OAKMAN, C.; VIALE, G.; LEO, A. DI; LIEDTKE, C.; GAETJE, R.; RUCKHAEBERLE, E.; AL., E. Management of triple negative breast cancer. *Breast (Edinburgh, Scotland)*, v. 19, n. 5, p. 312–21, 2010.
- PARKER, J. S.; Mullins M.; Cheang M. C.; Leung S.; Voduc D.; Vickery T.; Davies S.; Fauron C.; He X.; Hu Z.; Quackenbush J. F.; Stijleman I. J.; Palazzo J.; Marron J. S.; Nobel A. B.; Mardis E.; Nielsen T. O.; Ellis M. J.; Perou C. M.; Bernard P. S. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *Journal of Clinical Oncology*, v. 27, n. 8, p. 1160–1167, 2009.
- PRASHAR, A.; LOCKE, I. C.; EVANS, C. S. Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. *Cell Prolif*, v. 39, n.4, p. 241-248, 2006.

- PUSZTAI, L. Molecular Classification of Breast Cancer: Limitations and Potential. *The Oncologist*, v. 11, n. 8, p. 868–877, 2006.
- RAKHA, E. A.; Reis-Filho J. S.; Baehner F.; Dabbs D. J.; Decker T.; Eusebi V.; Fox S. B.; Ichihara S.; Jacquemier J.; Lakhani S. R.; Palacios J. Richardson A. L.; Schnitt S. J.; Schmitt F. C.; Tan P. H.; Tse G. M.; Badve S.; Ellis I. O. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Research*, v. 12, n. 4, p. 207, 2010.
- RAKHA, E. A.; GREEN, A. R. Molecular classification of breast cancer: what the pathologist needs to know. *Pathology*, v. 49, n. 2, p. 111–119, 2017.
- SAMANO, E. S. T.; RIBEIRO, L. M.; CAMPOS, A. S.; LEWIN, F.; FILHO, E. S. V.; GOLDENSTEIN, P. T.; COSTA, L. J. M.; GIGLIO, A. DEL. Use of complementary and alternative medicine by Brazilian oncologists. *European Journal of Cancer Care*, v. 14, n. 2, p. 143–148, 2005.
- SARVMEILI, N.; JAFARIAN-DEHKORDI, A.; ZOLFAGHARI, B. Cytotoxic effects of *Pinus eldarica* essential oil and extracts on HeLa and MCF-7 cell lines. *Research in Pharmaceutical Sciences*, v. 11, n. 6, p. 476–483, 2016.
- SATSU, H.; MATSUDA, T.; TOSHIMITSU, T.; MORI, A.; MAE, T.; TSUKAGAWA, M.; KITAHARA, M.; SHIMIZU, M. Regulation of interleukin-8 secretion in human intestinal epithelial Caco-2 cells by alpha-humulene. *BioFactors* (Oxford, England), v. 21, n. 1–4, p. 137–9, 2004.
- SELESTINO NETA, M. C.; VITTORAZZI, C.; GUIMARÃES, A. C.; MARTINS, J. D. L.; FRONZA, M.; ENDRINGER, D. C.; SCHERER, R. Effects of β -caryophyllene and *Murraya paniculata* essential oil in the murine hepatoma cells and in the bacteria and fungi 24-h time–kill curve studies. *Pharmaceutical Biology*, 2017.

- SERUGA, B.; ZHANG, H.; BERNSTEIN, L. J.; TANNOCK, I. F. Cytokines and their relationship to the symptoms and outcome of cancer. *Nature Reviews Cancer*, v. 8, n. 11, p. 887–899, 2008.
- SHNEERSON, C.; TASKILA, T.; GALE, N.; GREENFIELD, S.; CHEN, Y.-F. The effect of complementary and alternative medicine on the quality of life of cancer survivors: A systematic review and meta-analyses. *Complementary Therapies in Medicine*, v. 21, n. 4, p. 417–429, 2013.
- SIMEONE, A.-M.; NIEVES-ALICEA, R.; MCMURTRY, V. C.; COLELLA, S.; KRAHE, R.; TARI, A. M. Cyclooxygenase-2 uses the protein kinase C/ interleukin-8/urokinase-type plasminogen activator pathway to increase the invasiveness of breast cancer cells. *International journal of oncology*, v. 30, n. 4, p. 785–92, 2007.
- STELZER, G.; Rosen N.; Plaschkes I.; Zimmerman S.; Twik M.; Fishilevich S.; Stein T. I.; Nudel R.; Lieder I.; Mazor Y.; Kaplan S.; Dahary D.; Warshawsky D.; Guan-Golan Y.; Kohn A.; Rappaport N.; Safran M.; Lancet D. The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analyses. *In: Current Protocols in Bioinformatics*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., p. 1.30.1-1.30.33, 2016.
- SUNG, B.; JHURANI, S.; AHN, K. S.; MASTUO, Y.; YI, T.; GUHA, S.; LIU, M.; AGGARWAL, B. B. Zerumbone Down-regulates Chemokine Receptor CXCR4 Expression Leading to Inhibition of CXCL12-Induced Invasion of Breast and Pancreatic Tumor Cells. *Cancer Research*, v. 68, n. 21, p. 8938–8944, 2008.
- THIERRY-MIEG, D.; THIERRY-MIEG, J. AceView: a comprehensive cDNA-supported gene and transcripts annotation. *Genome Biology*, v. 7, n. Suppl 1, p. S12, 2006.

UHLÉN, M.; Fagerberg L.; Hallström B. M.; Lindskog C.; Oksvold P.; Mardinoglu A.; Sivertsson Å.; Kampf C.; Sjöstedt E.; Asplund A.; Olsson I.; Edlund K.; Lundberg E.; Navani S.; Szigartyo C. A.; Odeberg J.; Djureinovic D.; Takanen J. O.; Hober S.; Alm T.; Edqvist P. H.; Berling H.; Tegel H.; Mulder J.; Rockberg J.; Nilsson P.; Schwenk J. M.; Hamsten M.; von Feilitzen K.; Forsberg M.; Persson L.; Johansson F.; Zwahlen M.; von Heijne G.; Nielsen J.; Pontén F. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science (New York, N.Y.)*, v. 347, n. 6220, p. 1260419, 2015.

UICC. TNM Classification of Malignant Tumours. Disponível em: <<https://www.uicc.org/resources/tnm>>.

USCANGA-PERALES, G. I.; SANTUARIO-FACIO, S. K.; ORTIZ-LÓPEZ, R. Triple negative breast cancer: Deciphering the biology and heterogeneity. *Medicina Universitaria*, v. 18, n. 71, p. 105–114, 2016.

VORONOV, E.; SHOUVAL, D. S.; KRELIN, Y.; CAGNANO, E.; BENHARROCH, D.; IWAKURA, Y.; DINARELLO, C. A.; APTE, R. N. IL-1 is required for tumor invasiveness and angiogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 100, n. 5, p. 2645–50, 2003.

WANG, M.; ZHANG, C.; SONG, Y.; WANG, Z.; WANG, Y.; LUO, F.; XU, YUJIE; ZHAO, Y.; WU, Z.; XU, YINGYING. Mechanism of immune evasion in breast cancer. *OncoTargets and therapy*, v. 10, p. 1561–1573, 2017.

ZERBINO, D. R.; Achuthan P.; Akanni W.; Amode M. R.; Barrell D.; Bhai J.; Billis K.; Cummins C.; Gall A.; Girón C. G.; Gil L.; Gordon L.; Haggerty L.; Haskell E.; Hourlier T.; Izuogu O. G.; Janacek S. H.; Juettemann T.; To J. K.; Laird M. R.; Lavidas I.; Liu Z.; Loveland J. E.; Maurel T.; McLaren W.; Moore B.; Mudge J.; Murphy D. N.; Newman V.; Nuhn M.; Ogeh D.; Ong C. K.; Parker A.; Patricio M.; Riat H. S.; Schuilenburg H.; Sheppard D.; Sparrow H.; Taylor K.; Thormann A.; Vullo A.; Walts B.; Zadissa A.; Frankish A.; Hunt S. E.; Kostadima M.; Langridge N.; Martin F. J.; Muffato M.; Perry E.; Ruffier M.; Staines D. M.; Trevanion S. J.; Aken B. L.; Cunningham F.; Yates A.; Flicek P. Ensembl 2018. *Nucleic Acids Research*, v. 46, n. D1, p. D754–D761, 2018.

CONCLUSÕES /

4. CONCLUSÕES

- Os sesquiterpenos α -humuleno e β -cariofileno, isoladamente ou combinados, mostram efeitos heterogêneos em linhagens de derivadas de carcinomas mamários humanos triplo-negativos. Esse efeito pode ser classificado como baixo (BT549, MDA-MB-231 e MDA-MB-436) ou modesto (BT-20), dependendo da linhagem estudada;
- Os compostos α -humuleno e β -cariofileno, isoladamente ou combinados, possuem efeito sobre as taxas de migração celular na linhagem BT-20;
- O tratamento com α -humuleno aumentou o nível de expressão do gene *C-X-C motif chemokine ligand 8* (CXCL8) na linhagem BT-20;
- Os níveis de expressão transcricional do gene *CXCL8* correlaciona-se com os parâmetros associados a pior prognóstico (tumores negativos para os receptores ER e/ou PR e classificados como dos subtipos Her-2 e basal-like segundo a PAM50) em carcinomas mamários humanos, mas não com parâmetros clínicos (estadiamento e sobrevida livre da doença).