

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 01/10/2022.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



AÇÃO DA PRÓPOLIS ASSOCIADA AO DOCETAXEL SOBRE
CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA E
SOBRE MONÓCITOS HUMANOS

ELIZA DE OLIVEIRA CARDOSO

Tese apresentada ao Instituto de Biociências,
UNESP, Campus de Botucatu, para obtenção do
título de Doutora junto ao Programa de Pós-
Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de
concentração: Biomoléculas – Estrutura e Função.

Orientador: Prof. Adj. José Maurício Sforcin
Co-orientadora: Dra. Karina Basso Santiago



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Julio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

AÇÃO DA PRÓPOLIS ASSOCIADA AO DOCETAXEL SOBRE
CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA E
SOBRE MONÓCITOS HUMANOS

ELIZA DE OLIVEIRA CARDOSO

ORIENTADOR: PROF. ADJ. JOSÉ MAURÍCIO SFORCIN

CO-ORIENTADORA: DRA. KARINA BASSO SANTIAGO

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração: Biomoléculas – Estrutura e Função.

**BOTUCATU – SP
2021**

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

Cardoso, Eliza de Oliveira.

Ação da própolis associada ao docetaxel sobre células de câncer de mama e sobre monócitos humanos / Eliza de Oliveira Cardoso. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: José Maurício Sforcin
Coorientador: Karina Basso Santiago
Capes: 20100000

1. Mamas - Câncer. 2. Imunomodulação. 3. Própole.
4. Docetaxel. 5. Monócitos. 6. Quimioterapia combinada.
7. Medicina alternativa.

Palavras-chave: Câncer de mama; Docetaxel; Imunomodulação; Própolis.

*Dedico este trabalho a todos os que ainda
possuem esperança no Brasil.*

Agradecimentos

Ao orientador e amigo José Maurício Sforcin, que docemente me acolheu em seu grupo de trabalho e que tem me ajudado a crescer como pessoa e como profissional. Obrigada pelos ensinamentos, pela paciência, pelo carinho e pelo companheirismo de todos os dias. Tenho poucas linhas aqui para dizer tudo o que deve ser dito, mas espero poder dizer durante todos os dias dessa grande amizade.

À minha co-orientadora Dra. Karina Basso Santiago, pelo empenho, companheirismo e amizade de todos os dias. Boa sorte no caminho da docência e que seus sonhos se realizem!

Aos meus companheiros de laboratório e pós-graduação Fernanda Conte, Karen Tasca, Arthur Sartori, Mariana Honório, Nicolas Ripari e Bruno Conti pelos suores derramados, pelas gargalhadas e pelos desabafos durante o café. Desejo que vocês tenham o sucesso que quiserem alcançar. Agradecimento especial também a todos que passaram pelo LIPNA durante minha estadia e que me auxiliaram no caminho percorrido até este momento.

À Dra. Graziela Romagnoli pela amizade, companheirismo e por toda ajuda na execução dos experimentos.

Ao Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos, por todo auxílio prestado durante a execução deste e dos demais projetos de nosso grupo, e pelo trabalho em conjunto no Projeto Temático da FAPESP (2017/04138-8).

Às professoras Sandra Bosco, Cláudia Rainho, Marjorie Golim, Terezinha Peraçoli e Flávia Delella, ao professor Luiz Chuffa, e aos alunos Jéssica Chechi, João Henrique, Aline, Rodrigo Lima, Mariana Romão, Priscila Rezeck, Vanessa Ribeiro, Maira Cuciolo e Luiz Lupi por todo auxílio carinhoso prestado durante o desenvolvimento dos experimentos.

A todos os professores, funcionários, graduandos e pós-graduandos do Setor de Microbiologia e Imunologia pelo auxílio e pelo companheirismo durante estes 9 anos de trabalho conjunto.

Ao Conselho de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada pelos debates durante as reuniões e por todo empenho em manter o nível de excelência de nosso programa de pós-graduação. Agradecimento especial a Ana Carolina Camargo pelo companheirismo durante nosso mandato como representantes discentes.

Aos docentes, funcionários e estudantes do Instituto de Biociências de Botucatu, pela minha formação pessoal e profissional, pelo carinho e respeito com o qual sempre fui tratada. O IB sempre será a minha casa.

Aos meus pais, por todo esforço comprometido na construção e suporte de nossa família, e pela superação dos momentos mais difíceis. Espero honrar a excelente criação que vocês me deram.

À minha parceira Chris Fiorato, pelo seu amor e compreensão, e por me ajudar a sobreviver (com o mínimo de sanidade) neste país maluco.

Aos amigos-irmãos Andrei, Ana Liz, Nina, Ju e Marina, pelo companheirismo e colo de sempre.

Às minhas irmãs de coração Fernanda Helena, Katiane Reis e Marília Quinalha pela luta e fortaleza para superar todas as adversidades da vida acadêmica e pessoal.

A todos os professores que me auxiliaram durante toda minha vida escolar e que são responsáveis por minha jornada, sendo a inspiração para que eu optasse por seguir a docência.

À CAPES e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela bolsa de Doutorado (2016/09986-4) concedida para execução deste projeto.

A todos que me acompanharam ao longo da jornada. São muitos nomes e laços fortes, e as histórias compartilhadas são fantásticas. Obrigada por tudo!

*“Eu amo o Brasil, mas odeio que o
capitalismo e seus apoiadores no governo
brasileiro privilegiam o lucro em detrimento das
pessoas”*

ANGELA DAVIS

Lista de Abreviaturas e Siglas

- 17 β -HSD:** 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase (17 β -Hidroxisteróides Desidrogenase)
- ABCG2:** ATP-Binding Cassette Transporter G2 (Transportador de Cassete de Ligação de ATP)
- APC:** Antigen-Presenting Cell (Célula Apresentadora de Antígeno)
- CAPE:** Caffeic Acid Phenethyl Ester (Cafeato de Feniletila)
- CCL:** Chemokine Ligand (Ligante de Quimiocina)
- DC:** Dendritic Cell (Célula Dendrítica)
- ELISA:** Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática)
- ER:** Estrogen Receptor (Receptor de Estrogênio)
- EROs:** Espécies Reativas do Oxigênio
- FAK:** Focal Adhesion Kinase (Quinase de Adesão Focal)
- HER2:** Human Epidermal growth factor Receptor type 2 (Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico do Tipo 2)
- HLA:** Human Leukocyte Antigen (Antígeno Leucocitário Humano)
- HR:** Hormone Receptor (Receptor de Hormônio)
- IFN- γ :** Interferon-Gamma (Interferon-gama)
- IGF-1:** Insulin-Like Growth Factor – 1 (Fator de Crescimento Semelhante à Insulina do Tipo 1)
- INCA:** Instituto Nacional do Câncer
- JAK/STAT:** Janus Kinase/Signal Transducers and Activators of Transcription (Transdutor do Quinase-Sinal de Janus e Ativador da Transcrição)
- LPS:** Lipopolissacarídeo
- MAPK:** Mitogen-activated protein kinase (Proteína Quinase Ativada por Mitógeno)
- MMP:** Matrix Metalloproteinase (Metaloproteinase de Matriz)
- MTT:** 3-(4,5-Dimetiltiazol-2yl)-2,5-Difenil Brometo de Tetrazolina
- NF- κ B:** Nuclear Factor Kappa B (Fator Nuclear Kappa B)
- NK:** Natural Killer Cell (Célula Exterminadora Natural)
- PAMPs:** Pathogen-Associated Molecular Pattern (Padrões Moleculares Associados a Patógenos)
- PR:** Progesterone Receptor (Receptor de Progesterona)
- TAM:** Tumor-Associated Macrophage (Macrófago Associado a Tumor)

TCR: T Cell Receptor (Receptor de Célula T)

Th: T helper Lymphocyte (Linfócito T auxiliar)

TLR: Toll-like Receptor (Receptor do tipo Toll)

TNF- α : Tumor Necrosis Factor Alpha (Fator de Necrose Tumoral Alfa)

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor (Fator de Crescimento Endotelial Vascular)

Resumo

Câncer é um grupo de doenças que atingem pessoas em todo o mundo, causando milhões de morte anualmente. Docetaxel (DTX) é uma das abordagens terapêuticas mais utilizadas contra cânceres de mama. Todavia, quimioterápicos podem apresentar efeitos colaterais, tais como toxicidade e imunossupressão, podendo levar ao aparecimento de infecções. Para minimizar os efeitos colaterais causados pela quimioterapia, tem-se investigado a associação entre quimioterápicos e produtos naturais. Própolis é um produto apícola que apresenta muitas atividades farmacológicas. Neste trabalho, investigamos a ação citotóxica e imunomoduladora de uma associação entre extrato etanólico de própolis (EEP) e docetaxel (DTX) sobre a linhagem celular MCF-7 de câncer de mama e sobre monócitos obtidos de mulheres saudáveis. O potencial citotóxico da combinação EEP+DTX sobre a linhagem MCF-7 e monócitos foi verificado por ensaio de viabilidade celular (MTT); e o tipo de morte celular (apoptose/necrose) foi avaliado por citometria de fluxo. Os efeitos de EEP, DTX e EEP+DTX sobre a migração e invasão das células MCF-7 também foram investigados. A produção das citocinas IL-1 β , TNF- α , IL-6 e IL-10 por monócitos foi verificada por ELISA; a expressão dos marcadores celulares HLA-DR, CD80, TLR-2 e TLR-4 foi avaliada por citometria de fluxo. Também foi avaliada a atividade fungicida de monócitos contra *Candida albicans* e a produção de espécies reativas do oxigênio (EROs). O impacto do sobrenadante de monócitos tratados sobre a viabilidade, migração e invasão das células tumorais também foi investigado. A associação EEP (25 μ g/mL) + DTX (10 nM) potencializou a ação citotóxica do quimioterápico contra a linhagem MCF-7, induzindo morte celular por necrose e impedindo a migração dessas células. EEP+DTX não afetou a viabilidade de monócitos humanos, estimulou a expressão de HLA-DR, a produção de TNF- α e IL-6, restaurou a atividade candidicida e reduziu o estresse oxidativo dos monócitos. Tais resultados indicam que EEP em combinação com baixas concentrações de DTX afetou a viabilidade e migração de células MCF-7 *in vitro*, e favoreceu alguns parâmetros imunológicos relacionados às funções dos monócitos. Estes são achados novos e relevantes que merecem mais investigações devido às suas implicações práticas, a fim de propor uma nova abordagem terapêutica na Medicina Alternativa e Complementar para pacientes oncológicos.

Palavras-chave: própolis, docetaxel, câncer de mama, imunomodulação

Abstract

Cancer widely affects the world population, with millions of deaths registered annually. Docetaxel (DTX) is one of the therapeutic approaches against breast cancer. Nevertheless, chemotherapy may exert side effects like toxicity and immunosuppression, leading to infections. In an attempt to reduce the adverse effects caused by chemotherapy, the dual application of medicines and natural products has been investigated. Propolis is made by honeybees showing many pharmacological properties. In this study, we investigated the cytotoxic and immunomodulatory effects of the ethanolic extract of propolis (EEP) in combination with DTX on breast cancer MCF-7 cells and on monocytes from healthy female blood donors. The cytotoxic potential of EEP+DTX was assessed by MTT assay and the type of tumor cell death (apoptosis/necrosis) was evaluated by flow cytometry. The effects of EEP, DTX and their combination on the migration and invasion of MCF-7 cells were observed. Cytokine production (IL-1 β , TNF- α , IL-6 and IL-10) by monocytes was assessed by ELISA; the expression of cell surface markers (HLA-DR, CD80, TLR-2 and TLR-4) was verified by flow cytometry. We also investigated the fungicidal activity of monocytes against *Candida albicans* and reactive oxygen species (ROS) generation. Finally, the impact of the supernatants of treated monocytes in the viability, migration and invasiveness of tumor cells was assessed. EEP (25 μ g/mL) + DTX (10 nM) enhanced the cytotoxic action of DTX alone against MCF-7 cells by inducing necrosis and inhibiting their migratory ability. EEP+DTX exerted no cytotoxic action in monocytes and stimulated HLA-DR expression, TNF- α and IL-6 production, exerted an immunorestorative action in the fungicidal activity and reduced the oxidative stress of monocytes. Data indicated that EEP in combination with lower concentrations of DTX affected the viability and migration of MCF-7 cells *in vitro*, and improved some immunological parameters related to monocyte functions. This is a new and relevant finding that deserves further investigation due to its practical implications, proposing a new therapeutic approach for oncologic patients in Complementary and Alternative Medicine.

Keywords: propolis, docetaxel, breast cancer, immunomodulation

Sumário

Lista de Abreviaturas e Siglas

Resumo

Abstract

1. Introdução.....	11
1.1. Câncer de mama e quimioterapia.....	7
1.2. O papel dos monócitos na imunidade contra cânceres.....	14
1.3. Própolis.....	21
2. Objetivos.....	25
2.1. Objetivo geral.....	25
2.2. Objetivos específicos.....	25
Referências bibliográficas.....	27
Manuscrito.....	37
Conclusão.....	67
ANEXO I	

Introdução

1. Introdução

1.1. Câncer de mama e quimioterapia

Câncer é o nome dado ao conjunto de doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células capazes de invadir tecidos e órgãos, com a possibilidade de se espalharem para diversas regiões do corpo. Atinge milhões de pessoas pelo mundo, com a previsão de 22 milhões de novos diagnósticos de câncer até 2030 (BRAY, 2016).

Em fevereiro de 2020, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) lançou a publicação “Estimativa 2020 – Incidência de Câncer no Brasil”, na qual há informações sobre as taxas de incidências dos diferentes tipos de cânceres no Brasil para o triênio 2020–2022. Para cada ano do triênio é estimada a ocorrência de 600 mil novos casos de câncer. Exceto o câncer de pele não melanoma, os cânceres mais incidentes serão os de próstata nos homens (29,2%) e de mama nas mulheres (29,7%), sendo este último predominante nas regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste (Figura 1) (INCA, 2019).

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
Próstata	65.840	29,2%	Homens		Mama feminina	66.280	29,7%
Cólon e reto	20.520	9,1%			Cólon e reto	20.470	9,2%
Traqueia, brônquio e pulmão	17.760	7,9%			Colo do útero	16.590	7,4%
Estômago	13.360	5,9%			Traqueia, brônquio e pulmão	12.440	5,6%
Cavidade oral	11.180	5,0%			Glândula tireoide	11.950	5,4%
Esôfago	8.690	3,9%			Estômago	7.870	3,5%
Bexiga	7.590	3,4%			Ovário	6.650	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.580	2,9%			Corpo do útero	6.540	2,9%
Laringe	6.470	2,9%			Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%
Leucemias	5.920	2,6%			Sistema nervoso central	5.220	2,3%
			Mulheres				

*Números arredondados para múltiplos de 10.

Figura 1. Estimativa para 2020 dos dez tipos de câncer mais incidentes no Brasil por sexo, exceto pele não melanoma. Fonte: INCA, 2019.

O número de casos de câncer de mama previstos para cada ano do triênio é de 66.280, com risco estimado de 61,61 novos casos a cada 100 mil mulheres. O câncer de mama, assim como no Brasil, é o mais incidente no mundo entre as mulheres. Cerca de 2,1 milhões de novos casos ocorreram em 2018, sendo equivalente a 11,6% de todos os cânceres estimados, correspondendo a um risco de 55,2 casos a cada 100 mil. Embora sua incidência independa da condição socioeconômica de cada país, foi observado um declínio em alguns países desenvolvidos, atribuído à diminuição do tratamento de reposição hormonal pós-menopausa (BRAY *et al.*, 2018; FERLAY *et al.*, 2018; INCA, 2019). Todavia, o comprometimento causado por esse câncer muito se deve ao diagnóstico tardio da doença, principalmente nos

países de baixa e média renda, aumentando a morbidade e, conseqüentemente, comprometendo a qualidade de vida e sobrevida dos pacientes (INCA, 2015).

Quando nos referimos ao câncer de mama, remetemo-nos a um grupo de doenças que apresentam características moleculares próprias, variando de acordo com a complexidade genômica, alterações genéticas, resposta ao tratamento e prognóstico clínico. Dentre as possíveis classificações dos cânceres de mama, estes são comumente categorizados de acordo com a presença ou ausência de marcadores celulares para receptores de estrogênio (ER) ou progesterona (PR) e do fator de crescimento epidermal 2 (HER2). Deste modo, essas neoplasias podem ser classificadas em 4 subtipos principais: luminal A (HR+/Her2-) e luminal B (HR+/Her2+), que são positivos para a expressão de receptores de hormônios (HR), sendo estes receptores para estrogênio (ER) e/ou progesterona (PR); os Her2+, que não expressam receptores de hormônio mas expressam Her2+ (HR-/Her2+); e basal ou triplo-negativo (ER-/Her2-/PR-), os quais não expressam esses receptores (DeSANTIS *et al.*, 2019; WAKS & WINER, 2019; TSANG & TSÉ, 2020).

Para o estudo *in vitro* dos cânceres de mama, diferentes linhagens celulares têm sido utilizadas, permitindo avaliar as contribuições funcionais das anormalidades genômicas, visto que a transcrição desregulada presente nos cânceres primários humanos é conservada nas linhagens celulares. A diversidade genômica e biológica também pode ser utilizada para identificar características moleculares que podem predizer ou indicar a via de ação de agentes terapêuticos (NEVE *et al.*, 2006). As linhagens celulares de carcinomas mamários podem ser derivadas de várias fontes, incluindo derrames pleurais (MDA.MB.231 e MCF-7), tumores de mama primários (SUM149 e SUM159), recorrências de tumor primário (SUM225), e nódulos metastáticos xenoinxertados (SUM1315). A maior parte dos estudos realizados com linhagens celulares de câncer de mama relatam a utilização de 2 linhagens principais: MCF-7 e MDA.MB.231 (LACROIX & LECLERCQ, 2004).

A popularidade da utilização de células MCF-7 na pesquisa sobre câncer de mama se deve à alta expressão do receptor de estrogênio alfa (ER- α), assemelhando-se à maioria dos cânceres humanos invasivos (LEE *et al.*, 2015). Enquanto os cânceres de mama triplo-negativos apresentam os piores prognósticos, os cânceres que expressam o ER+ apresentam as melhores taxas de sobrevivência, devido à sua resposta às terapias hormonais (DeSANTIS *et al.*, 2016). A terapia hormonal para câncer de mama avançou muito após a descoberta do papel do tamoxifeno, na década de 60, como potente tratamento para câncer de mama avançado em mulheres pós-menopausa (JORDAN, 2007). Além de terapia hormonal para as pacientes que possuem receptores hormonais positivos (ER e PR), os médicos podem decidir por incluir

regimes de quimioterapia adjuvante ao tratamento em casos de cânceres precoces. Dentre essas possibilidades, os regimes envolvendo docetaxel associado à ciclofosfamida têm se mostrado como uma das escolhas razoáveis para pacientes de alto risco, considerando-se a toxicidade causada (WAKS & WINER, 2019).

O docetaxel é um quimioterápico da família dos taxanos, semi-sintetizado a partir de um precursor taxoide inativo, a 10-diacetil bacatina III, extraída da árvore da espécie *Taxus baccata*, popularmente conhecida como teixo europeu. As estruturas moleculares determinantes para a atividade do docetaxel são a cadeia lateral na posição C-13 e o sistema de anel taxana (Figura 2) (ABAL *et al.*, 2003; MONTERO *et al.*, 2005).

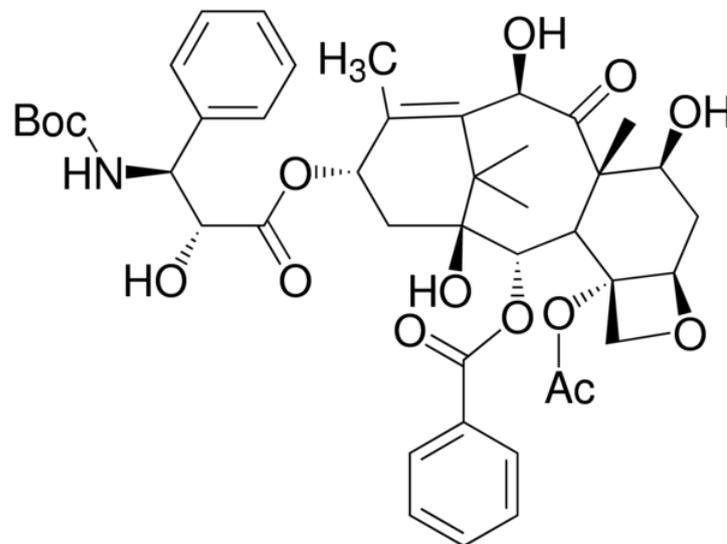


Figura 2. Fórmula química do docetaxel (C₄₃H₅₃NO₁₄). Fonte: PubChem.

O docetaxel atua se ligando à β -tubulina, interrompendo a dinâmica dos microtúbulos no citoplasma. Os microtúbulos estão envolvidos nos movimentos celulares e nas mudanças organizacionais que ocorrem durante o ciclo celular. Alterando a dinâmica dessas estruturas, as taxanas podem afetar a formação do fuso mitótico, agindo sobre a segregação dos cromossomos e realização da mitose, levando ao dano do DNA e bloqueando a progressão do ciclo celular. Assim, o docetaxel pode causar a inibição da divisão celular e, conseqüentemente, a proliferação celular em tumores. Além destes efeitos, age sobre um grande número de vias que levam à apoptose durante o tratamento (ABAL *et al.*, 2003; HERNÁNDEZ-VARGAS *et al.*, 2007).

Na linhagem MCF-7, o docetaxel atua na morte celular por meio de duas maneiras: em altas concentrações, o fármaco induz parada na divisão celular, seguida de apoptose. Em baixas

concentrações, o docetaxel não induz apoptose, mas sim a catástrofe mitótica, seguida de necrose (HERNÁNDEZ-VARGAS *et al.*, 2007). Tal evento é caracterizado pela indução de divisão mitótica aberrante ou perda da segregação dos cromossomos, seguida de divisão celular. Em volta dos cromossomos formam-se envelopes nucleares e múltiplos micronúcleos, comprometendo a viabilidade celular, distinguindo estas células morfológicamente de células apoptóticas (MORSE *et al.*, 2005).

Clinicamente, o docetaxel foi aprovado para utilização como terapia adjuvante em pacientes com câncer de mama precoce e de alto risco. Porém, devido à toxicidade sistêmica cumulativa apresentada depois de terapias prolongadas e baseadas em altas doses, tem-se buscado desenvolver novas terapias utilizando doses menores. O docetaxel é facilmente acumulado nas células, porém tal acúmulo não ocorre com a utilização de baixas doses (HERNÁNDEZ-VARGAS *et al.*, 2007). Todavia, o uso combinado de docetaxel com outros quimioterápicos aumenta o risco de efeitos colaterais. Como efeitos colaterais, uma significativa proporção dos pacientes tratados com docetaxel apresentaram fadiga, dor muscular e neutropenia febril. Embora raro, foi observado o desenvolvimento de tiflites em cerca de 1% dos pacientes, uma inflamação intestinal grave associada com a neutropenia, a qual pode ser fatal (SIM *et al.*, 2018). Assim, é preocupante a possível ação do quimioterápico sobre as células envolvidas na imunidade do paciente em tratamento, podendo resultar no prejuízo de suas funções contra cânceres e micro-organismos.

1.2. O papel dos monócitos na imunidade contra cânceres

No processo de metástase, as células tumorais potencialmente imunogênicas podem ser expostas às células envolvidas na imunidade, que poderão reconhecê-las e tentarão restringir sua instalação e crescimento em outros tecidos. Todavia, tal processo pode ser prejudicado pelo desenvolvimento de mecanismos de escape da célula tumoral, evitando assim a ação do sistema imunológico (KITAMURA *et al.*, 2015). Dentre as células do sistema imune atuantes contra o câncer, tem sido demonstrada a importante participação de monócitos e/ou macrófagos e linfócitos T no controle da angiogênese, metástase e invasão tumoral (CHITTEZHATH *et al.*, 2014; SALMON *et al.*, 2019).

Monócitos constituem uma população de leucócitos mononucleares que se desenvolvem na medula óssea a partir de monoblastos e são liberados na corrente sanguínea, podendo adentrar nos tecidos, nos quais suas características e funções serão determinadas de acordo com o microambiente (LEE *et al.*, 2013). Monócitos representam 10% dos leucócitos no sangue

humano, estando presentes também em outros mamíferos, aves, anfíbios e peixes. Têm importante papel na manutenção da homeostase, por removerem células apoptóticas e componentes tóxicos. Em mamíferos, monócitos também representam o elo entre a defesa inata contra micro-organismos e a resposta imune adaptativa (AUFFRAY *et al.*, 2009).

Para o início de uma resposta imunológica, faz-se necessário o reconhecimento de antígenos. Dentre os vários receptores expressos na superfície de monócitos que podem reconhecer padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), damos destaque a dois deles: os receptores TLR-2 e TLR-4. A estimulação de diferentes TLRs por componentes microbianos induz ativação de diferentes fatores de transcrição e expressão gênica de citocinas, que podem favorecer a imunidade inata, bem como comandar o direcionamento da imunidade antígeno-específica (AKIRA & TAKEDA, 2004).

TLR-2 é essencial para o reconhecimento de lipopeptídeos de vários micro-organismos, como bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, micoplasma, micobactérias e espiroquetas (TAKEDA *et al.*, 2002). TLR-4 está relacionado ao reconhecimento de LPS de bactérias Gram-negativas. Além de componentes bacterianos, estes receptores também reconhecem componentes presentes em fungos: TLR-2 é responsável pelo reconhecimento de β -glucana e fosfolipomanana, e TLR-4 reconhece mananas (moléculas de superfície de fungos, como o gênero *Candida*) (NETEA *et al.*, 2008; KUMAR *et al.*, 2009; BOURGEOIS & KUHLER, 2012). Após o reconhecimento de antígenos presentes na superfície de *Candida albicans*, ocorre a produção de citocinas pró-inflamatórias que serão importantes para a atuação da célula fagocítica sobre o fungo (NETEA *et al.*, 2015).

Como a ativação de receptores TLR resulta na ativação da via do NF- κ B, a crônica estimulação destes receptores está associada à inflamação e desenvolvimento de alguns tumores malignos. Polimorfismos genéticos desses receptores também estão associados ao maior risco de desenvolvimento de alguns tipos de cânceres, e o bloqueio de sua ativação em alguns casos de inflamação crônica pode apresentar benefícios terapêuticos contra o desenvolvimento de cânceres (CHOW *et al.*, 2012; MOHME *et al.*, 2017).

Após o reconhecimento de antígenos, a ativação de linfócitos T depende da interação entre moléculas coestimuladoras, como a associação entre CD28 e as moléculas da família B7 (CD80 e CD86) (WOLK *et al.*, 2000). Tais interações são importantes para a ativação dos linfócitos T, e a ausência de moléculas B7 nas células apresentadoras de antígenos (APCs) impede o reconhecimento adequado de antígenos pelo receptor de células T (TCR), levando à anergia ou morte dos linfócitos. Estímulos relacionados ao CD80 podem levar à ativação de

linfócitos Th1, favorecendo assim a resposta antitumoral. Por outro lado, estímulos associados a CD86 levam à ativação da resposta Th2 (MATTERN *et al.*, 1998; LAHAT *et al.*, 2003).

Alguns fármacos utilizados no tratamento de câncer podem atuar sobre células e funções específicas do sistema imunológico, modulando sua atividade. Como exemplo, o taxol é capaz de elevar a produção de IL-1 β por monócitos humanos, a qual pode iniciar uma resposta inflamatória contra o tumor ou impedir sua vascularização, restringindo seu crescimento, além de aumentar a capacidade fagocítica em monócitos/macrófagos (WHITE *et al.*, 1998). Por outro lado, a administração de quimioterapia também se apresenta como fator estressante para o organismo, afetando a expressão de moléculas importantes para a elaboração da resposta imunológica, como a expressão da molécula HLA-DR na superfície celular, a qual é expressa em células apresentadoras de antígenos (APCs), como células dendríticas, macrófagos e monócitos, e cuja função é apresentar os antígenos processados para células T CD4+ a fim de iniciar a resposta imune específica (PERRY *et al.*, 2003). A diminuição da expressão de HLA-DR pode estar associada ao aumento do risco de infecções hospitalares e morte em pacientes imunodeprimidos e/ou submetidos a regimes quimioterápicos (DÖCKE *et al.*, 2005; KIM *et al.*, 2010; HOTCHKISS *et al.*, 2013; HIGASHI *et al.*, 2015).

Por serem células circulantes, os monócitos podem atuar como adversários imunológicos contra as células tumorais que se desvincularam do tecido tumoral, interferindo, assim, no processo de metástase (MOHME *et al.*, 2017). Tal comportamento pôde ser observado em pacientes com diferentes cânceres de mama, nos quais monócitos foram recrutados para os sítios de metástase nos pulmões onde produziram citocinas como TNF- α e IFN- γ e atraíram neutrófilos, atuando contra as células tumorais de mama que poderiam aderir ao tecido pulmonar (HAGERLING *et al.*, 2019).

Embora monócitos participem da resposta imune antitumoral por meio da indução de morte celular mediada por citocinas e do processo fagocítico, há evidências de que monócitos e macrófagos também possam favorecer a progressão do tumor, contribuindo para metástase e imunossupressão, pois expressam genes relacionados ao processo de angiogênese e invasão tecidual (QIAN *et al.*, 2011; CHITTEZHATH *et al.*, 2014; HUNG *et al.*, 2018; OLINGY *et al.*, 2019).

Os estudos de Casseta *et al.* (2019) e Ramos *et al.* (2020) demonstraram que os sítios tumorais mamário e endometrial são capazes de recrutar monócitos circulantes, alterando seu perfil transcricional de modo que estas células se diferenciem em macrófagos associados a tumores (TAM). Monócitos infiltrados no sítio tumoral podem expressar fatores que podem favorecer ou dificultar a progressão tumoral, incluindo citocinas e quimiocinas. Dentre as

citocinas liberadas, destacaremos TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10. A expressão de destas citocinas tem sido relacionada ao aumento da invasão tumoral e pior prognóstico (GOLDBERG & SCHWERTFEGER, 2010).

A literatura relata efeitos divergentes destas citocinas em estudos utilizando linhagens celulares e modelos animais, bem como seus diferentes papéis nos processos de imunovigilância e escape tumoral (SALAZAR-ONFRAY *et al.*, 2007). TNF- α pode aumentar a expressão de mediadores pró-tumorigênicos por células tumorais (MCF-7 e T47D), como metaloproteinases de matriz (MMP2 e MMP9), assim como a liberação de quimiocinas que atraem monócitos (BEN-BARUCH, 2003). Outros estudos indicaram que a ação do TNF- α pode variar entre essas linhagens tumorais, embora tanto MCF-7 quanto T47D sejam responsivas a estrogênio. Em células MCF-7, o tratamento com TNF- α induziu apoptose, enquanto que, em células T47D, promoveu proliferação celular (GOLDBERG & SCHWERTFEGER, 2010). TNF- α também pode induzir a expressão de quimiocinas (CCL5 e CCL2) em diferentes linhagens de carcinoma de mama, e níveis elevados de quimiocinas podem recrutar células inflamatórias (como monócitos), resultando num círculo vicioso de infiltração contínua e expressão de fatores pró-malignos como citocinas inflamatórias (TNF- α e IL-6), fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e enzimas de degradação da matriz extracelular, como metaloproteinases de matriz. Tais produtos podem favorecer a angiogênese e a perda da arquitetura do tecido, resultando na migração e invasão celular, determinando um papel-chave desses monócitos infiltrantes na metástase do câncer de mama, favorecendo assim a progressão da doença (BEN-BARUCH, 2003; ENGBLOM *et al.*, 2016; CASSETTA *et al.*, 2019).

Em estudos *in vivo*, quando administrado diretamente sobre os tumores de camundongos, TNF- α inibiu o crescimento do tumor e metástase. Assim, demonstrou-se que altas doses de TNF- α podem apresentar potencial antitumorigênico, levando, contudo, à toxicidade sistêmica. Em seres humanos, o tratamento com perfusão de TNF- α sobre sarcomas em pernas e braços e melanomas foi aprovado na Europa, resultando no efeito antitumoral pela destruição da vasculatura que alimentava os tumores. Todavia, em amostras de câncer de mama humana, elevadas concentrações de TNF- α foram associadas ao aumento de metástases nos linfonodos e, conseqüentemente, à evolução do estágio tumoral (AGGARWAL, 2003; GOLDBERG & SCHWERTFEGER, 2010).

Além destes resultados, TNF- α também induz maior expressão e atividade de ABCG2 - transportador associado à resistência das células tumorais aos quimioterápicos. Tal efeito também foi atribuído à presença de IL-1 β (GOLDBERG & SCHWERTFEGER, 2010).

IL-1 β é uma citocina que também apresentou efeitos controversos em ensaios biológicos. Esta citocina pode diminuir a proliferação de células endoteliais e inibir a angiogênese (WHITE *et al.*, 1998). Por outro lado, é uma citocina que tem sido encontrada em tecidos de câncer de mama humanos, sendo expressa pelas células tumorais ou por células associadas ao ambiente tumoral. A presença de IL-1 β , bem como de seu receptor solúvel (IL-1R), pode atuar sobre a produção de outras citocinas pró-tumorigênicas, como IL-8, contribuindo para angiogênese, proliferação e invasão. Todavia, as vias de sinalização associadas à família IL-1 podem ser diferentes em células ER+ (MCF-7) e em células ER- (MDA-MB231) (NICOLINI *et al.*, 2006).

A produção elevada de IL-1 β é frequentemente associada a prognósticos negativos em pacientes com cânceres de mama. Em ensaios *in vitro*, foi demonstrado que esta citocina está associada à migração de células MCF-7, ao agir sobre a fosforilação da proteína cinase de adesão focal (FAK) e expressão de MMP-9. Também foi demonstrado que a elevada presença de IL-1 β atrai células mieloides supressoras que são capazes de suprimir células T CD4+ e CD8+, inibindo a resposta imune contra tumores (GOLDBERG & SCHWERTFEGER, 2010).

Outra citocina que possui atividades controversas sobre tumores é a IL-6. Em relação aos mecanismos imunológicos, a IL-6 se mostra necessária na resposta contra patógenos, na atração de leucócitos para sítios inflamatórios, ativação e diferenciação de linfócitos T e macrófagos, e para a produção de proteínas inflamatórias de fase aguda em resposta à lesão tecidual. Pela indução da diferenciação de linfócitos T e do estímulo da citotoxicidade dessas células, a IL-6 demonstra atividade antitumoral (NICOLINI *et al.*, 2006). Porém, essa citocina tem sido encontrada em altas concentrações em amostras de câncer de mama, e acredita-se que seja produzida por fibroblastos, macrófagos e linfócitos Th2 associados ao tumor. Sua presença tem sido associada à proliferação tumoral e resistência ao tratamento quimioendócrino – aquele com associação entre medicamentos quimioterápicos e agonistas hormonais. Uma das possíveis vias de atuação da IL-6 consiste no aumento da produção da enzima 17 β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo I (17 β -HSD), responsável por converter estrona (E1) a estradiol (E2) - forma biologicamente ativa do estrogênio. Tal hormônio atua sobre as células tumorais responsivas a estrogênio presentes no tecido mamário, induzindo sua proliferação (CONZE *et al.*, 2001; HONMA *et al.*, 2002; NICOLINI *et al.*, 2006; KNUPFER & PREIB, 2007; GOLDBERG & SCHWERTFEGER, 2010). A IL-6 também pode aumentar a motilidade das células tumorais por mecanismos possivelmente relacionados à diminuição de E-caderina e subsequente diminuição da adesão celular, favorecendo assim a invasividade de células MCF-7 (GOLDBERG & SCHWERTFEGER, 2010). Esta citocina também exerce seus efeitos por

meio da ativação de vias de sinalização (JAK/STAT e MAPkinase) resultando na regulação transcricional de genes envolvidos na proliferação celular, sobrevivência e diferenciação (NICOLINI *et al.*, 2006).

As células tumorais também podem secretar IL-6, cujos níveis *in vitro* variam de acordo com as características moleculares das linhagens tumorais. Como exemplo, células ER- (MDA-MB231) secretam mais IL-6 que células ER+ (MCF-7) (GOLDBERG & SCHWERTFEGER, 2010).

Tais contradições sobre a atividade da IL-6 em cânceres de mama são respaldadas por diversos trabalhos da literatura. Como revisto em KNUPFER & PREIB (2007), alguns trabalhos realizados em amostras de tecido mamário não indicam associação entre IL-6 e câncer de mama, enquanto outros indicam prognósticos positivos ou negativos. Esses dados precisam ser interpretados com cautela, pois os resultados parecem ser opostos. Mas a maioria dos trabalhos indicam que a maior concentração de IL-6 no soro de pacientes com câncer está associada a pior prognóstico.

A ação antitumoral das citocinas mencionadas foi demonstrada em ensaios *in vitro*. Nesses ensaios, as citocinas atuaram sobre as células tumorais pela inibição do receptor para o fator de crescimento IGF-1, que é altamente expresso em células MCF-7, e capaz de estimular a síntese de DNA. TNF- α , IL-1 β e IL-6 reduziram a capacidade de IGF-1 induzir a síntese de DNA nestas células, impedindo sua entrada na fase S do ciclo celular, inibindo a proliferação de células MCF-7. Também nesse trabalho, as citocinas não foram citotóxicas para as células tumorais, mas o TNF- α induziu maior susceptibilidade à fragmentação do DNA (SHEN *et al.*, 2002; KNUPFER & PREIB, 2007).

Assim como as citocinas apresentadas acima, a IL-10 apresenta resultados conflitantes quanto à sua atuação em pacientes oncológicos. Esta citocina pode ser produzida por leucócitos e pelas células tumorais, e sua presença no soro de pacientes foi relacionada tanto a prognósticos negativos para os estágios tardios da doença, devido à sua ação imunossupressora (KOVACS, 2010; LIPPITZ, 2013) quanto a prognósticos positivos em pacientes com cânceres precoces, devido à sua ação anti-inflamatória, que pode contribuir para a progressão tumoral (AHMAD *et al.*, 2018).

As características ambíguas das citocinas no microambiente tumoral demonstram que a atuação de algumas células imunes, como os monócitos, sobre o sítio tumoral ainda não foi totalmente decifrada, envolvendo vários fatores, como o estágio tumoral e o microambiente, e os diversos mediadores que podem ser produzidos (ENGBLOM *et al.*, 2016). Deste modo, diferentes terapias utilizadas para o tratamento de cânceres de mama podem atuar também sobre

o sistema imunológico, o que denota a importância de novas pesquisas que possam contribuir nesse contexto.

A atividade fagocítica de células do sistema imune é importante para a eliminação de células tumorais e também para a resposta imune do hospedeiro, principalmente na resposta contra agentes patogênicos, como bactérias e fungos, que podem ser causadores de infecções oportunistas (FENG *et al.*, 2019). A atividade fagocítica pode ser comprometida pela ação do docetaxel sobre os microtúbulos (TEOH & PAVELKA, 2016). Além deste efeito colateral específico, os tratamentos quimioterápicos também podem causar imunossupressão, acarretando diversas infecções oportunistas. Um dos agentes causadores de infecções oportunistas em indivíduos imunossuprimidos é a *Candida albicans*, que pode levar a óbito mais de 30% de indivíduos imunocomprometidos (WISPLINGHOFF *et al.*, 2004; NETEA *et al.*, 2008).

Em pacientes com câncer, a infecção por *C. albicans* é a mais comum. Esta espécie de fungo é comensal da espécie humana e é uma das principais espécies que colonizam a pele, as mucosas e os tratos gastrointestinal e urogenital. Pode causar infecções superficiais em indivíduos saudáveis, porém, em indivíduos imunocomprometidos, pode se tornar letal. Tal letalidade acontece por diferentes fatores, tais como a dificuldade em se estabelecer o diagnóstico da infecção, a resistência dos fungos ao tratamento, bem como a redução das respostas imunes inata e adaptativa (TEOH & PAVELKA, 2016).

O estudo de Ahmadi e colaboradores (2019) realizado em camundongos indicou que os mecanismos de escape induzidos pela infecção sistêmica por *C. albicans* podem favorecer também o crescimento do adenocarcinoma mamário. Estes mecanismos de escape estão relacionados à indução de maior produção de IL-10 pelo hospedeiro, induzindo ação anti-inflamatória. A infecção também reduz a produção de IFN- γ , responsável pela resposta Th1, a qual pode ser efetiva tanto contra a infecção patogênica quanto contra tumores. Deste modo, a produção das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β e IL-6 pelos monócitos é uma importante ferramenta imunológica contra a infecção por *C. albicans*, sendo importantes para o recrutamento e ativação das células fagocíticas (NETEA *et al.*, 2015; TEOH & PAVELKA, 2016).

Fagócitos são células altamente produtoras de espécies reativas do oxigênio (EROs), que são importantes para a destruição de micro-organismos fagocitados. Todavia, a alta produção de EROs também está envolvida com mecanismos internos de lesão celular, podendo levar a célula ao colapso de suas funções (BANERJEE *et al.*, 2020). Muitas drogas quimioterápicos são fortes indutoras de produção de EROs por células e tecidos não-

neoplásicos, gerando estresse oxidativo nesses ambientes e aumentando a toxicidade colateral desses medicamentos (CHEN *et al.*, 2007; TABACZAR *et al.*, 2012; BAS *et al.*; 2019). Em macrófagos, a alta produção de EROs pode direcionar para a diferenciação dessas células em macrófagos associados a tumores de caráter anti-inflamatório e podem favorecer a progressão tumoral. Desse modo, o impedimento da produção ou da ação das EROs pode favorecer a resposta imunológica durante o tratamento contra os cânceres (ZHANG *et al.*, 2013).

Com o objetivo de potencializar os efeitos citotóxicos contra células tumorais e diminuir o impacto exercido pelos agentes antitumorais sobre o sistema imunológico, diferentes estudos têm investigado a administração concomitante de produtos naturais com quimioterápicos (AMBROZ *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2016). Como exemplo, a associação entre resveratrol e curcumina potencializou o efeito da doxorubicina sobre células de câncer de ovário, além de atenuar o efeito cardiotoxico do quimioterápico (CARLSON *et al.*, 2014). A curcumina também promoveu melhora do efeito da cisplatina sobre células escamosas de carcinoma de cabeça e pescoço (DUARTE *et al.*, 2010).

Pesquisadores também têm avaliado a associação de diferentes produtos naturais como o chá verde, a quercetina, o resveratrol, a melatonina e a capsaicina ao docetaxel sobre diferentes linhagens celulares de cânceres de mama e próstata, indicando que a associação entre estes produtos potencializou a ação antitumoral do quimioterápico (WANG *et al.*, 2015; SINGH *et al.*, 2017; ALONSO-GONZÁLEZ *et al.*, 2018; SÁNCHEZ *et al.*, 2019).

1.3. Própolis

Dentre os diversos produtos naturais estudados no tratamento do câncer, a própolis tem sido considerada promissora. A própolis é produzida a partir de exsudatos e resinas, de diferentes fontes vegetais, coletados por abelhas africanizadas, além da adição de cera e secreção de suas glândulas (BURDOCK, 1998). Este produto tem sido intensamente investigado por nosso grupo de pesquisa, avaliando principalmente sua ação imunomoduladora, antitumoral e antimicrobiana (SFORCIN, 2007; SFORCIN & BANKOVA, 2011; SFORCIN, 2016; RIPARI *et al.*, 2021). Diferentes amostras de própolis têm sido apontadas como agentes citotóxicos *in vitro* e quimiopreventivos contra vários tipos de cânceres *in vivo* (BANSKOTA *et al.*, 2001; ORŠOLIĆ, 2010; SEDA VATANSEVER *et al.*, 2010; WATANABE *et al.*, 2011; FRIÓN-HERRERA *et al.*, 2015; MORA *et al.*, 2019).

Dados recentes demonstraram que a amostra de própolis utilizada por nosso grupo exerceu ação citotóxica *in vitro* sobre células A549 de câncer de pulmão, induzindo apoptose e

diminuindo o potencial de membrana mitocondrial devido à superexpressão de genes pró-apoptóticos (*Bax* e *Noxa*) e redução do gene antiapoptótico *Bcl-X_L* (FRIÓN-HERRERA *et al.*, 2015). O mesmo extrato hidroalcolólico de própolis também exerceu atividade citotóxica sobre células de carcinoma de laringe humana (HEp-2), induzindo parada no ciclo celular e apoptose (SILVA *et al.*, 2017).

Alguns trabalhos indicam que a própolis apresenta potencial em melhorar a ação de agentes antitumorais, provavelmente devido a um possível efeito sinérgico. Tal potencial foi demonstrado por nosso grupo, revelando que a associação de própolis com carboplatina foi eficiente no controle da proliferação de células de osteossarcoma canino *in vitro* (BERNARDINO *et al.*, 2018). Em ensaios *in vivo* com ratas que desenvolveram câncer de mama também foi observado a contribuição da própolis em potencializar a ação do paclitaxel, induzindo ação antioxidante e protegendo o organismo de efeitos colaterais induzidos pela terapia (PADMAVATHI *et al.*, 2006).

Componentes isolados da própolis também podem exercer citotoxicidade *in vitro*. Como demonstrado por Silva e colaboradores (2017), o ácido cafeico também apresentou efeito citotóxico contra a linhagem celular HEp-2. Um componente similar, o cafeato de feniletila (CAPE) também apresentou atividade citotóxica contra células tumorais da linhagem MCF-7, e sua associação ao tamoxifeno potencializou o efeito deste quimioterápico (MOTAWI *et al.*, 2016).

Além disso, um produto das abelhas sem ferrão – a geoprópolis – associado a diferentes quimioterápicos (carboplatina, metotrexato e doxorrubicina) contra células HEp-2, também apresentou resultados promissores, exercendo maior citotoxicidade sobre as células tumorais em comparação a estes tratamentos isoladamente (BARTOLOMEU *et al.*, 2016). Adicionalmente a este trabalho, a atividade da combinação de geoprópolis + doxorrubicina em monócitos humanos foi avaliada por nosso grupo. Os dados obtidos demonstraram que a combinação não foi citotóxica para monócitos humanos, possuindo ação imunomoduladora sobre estas células. Além disso, a adição da geoprópolis impediu a redução do potencial microbicida e produção de espécies reativas do oxigênio exercida pela doxorrubicina (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

A própolis também apresenta atividade moduladora da resposta imune antitumoral. Células *natural killer* (NK) de ratos tratados com própolis apresentaram maior atividade citotóxica sobre células tumorais Yac-1 (SFORCIN *et al.*, 2002). A própolis estimulou também a produção de citocinas pró-inflamatórias por animais portadores de melanoma e que foram submetidos a estresse crônico, favorecendo a ativação da resposta imune celular antitumoral

(MISSIMA *et al.*, 2009). Em camundongos com metástases originadas de carcinoma mamário, a própolis e alguns de seus componentes (ácido cafeico, CAPE e quercetina) atuaram sobre os sítios metastáticos reduzindo o número de nódulos, além de ativarem a produção de espécies reativas do oxigênio e IL-1 β por macrófagos, o que contribuiu para a ação imunológica contra o tumor (ORŠOLIĆ *et al.*, 2004). A administração de própolis iraniana para camundongos com câncer de mama e candidíase disseminada demonstrou que o apiterápico atuou contra o tumor e contra a infecção fúngica por meio da produção de TNF- α e IFN- γ (KHOSRAVI *et al.*, 2014).

Analisando seu efeito sobre células humanas envolvidas na imunidade como monócitos e células dendríticas, a própolis apresentou potencial modulador sobre os eventos iniciais da resposta imune (BÚFALO *et al.*, 2014; CONTI *et al.*, 2016; SANTIAGO *et al.*, 2016; SFORCIN, 2016). Muitas destas funções estão diretamente relacionadas a seus componentes fenólicos, dos quais destacam-se os ácidos derivados do ácido cinâmico: ácido cafeico, ácido dihidrocinâmico e *p*-cumárico (BÚFALO *et al.*, 2013; CONTI *et al.*, 2013; CARDOSO *et al.*, 2017)

Assim, os dados obtidos por nosso grupo e por demais pesquisadores têm demonstrado que a própolis apresenta-se como um produto com propriedades antitumoral e imunomoduladora, podendo ser utilizada em estudos que objetivam o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para o tratamento do câncer. Neste cenário, nosso grupo também tem investigado a ação de combinações entre a própolis ou geoprópolis e quimioterápicos sobre linhagens tumorais. Além disso, temos investigado a ação imunomoduladora destas combinações sobre monócitos humanos, que são células circulantes do sangue periférico e expostas aos quimioterápicos, a fim de compreendermos a ação da própolis sobre células de defesa expostas a quimioterápicos.

Conclusão

Conclusão

Nossos dados demonstraram que a própolis (EEP) combinada às concentrações reduzidas de docetaxel (DTX) apresentou atividade citotóxica contra a linhagem MCF-7 de câncer de mama *in vitro*, induzindo necrose e inibindo sua migração. A combinação EEP+DTX induziu maior expressão de HLA-DR em monócitos humanos, favorecendo a apresentação de antígenos. EEP+DTX também induziu aumento na produção de TNF- α e IL-6 por monócitos, restaurou a atividade candidacida e reduziu o estresse oxidativo destas células. Tais achados são relevantes e demonstram os efeitos da combinação EEP+DTX contra células de cânceres de mama e seu impacto em monócitos obtidos de mulheres saudáveis. Posteriores ensaios pré-clínicos e clínicos poderão ser realizados para observar os efeitos dessa combinação, podendo ser uma nova abordagem que objetiva melhorar o tratamento de pacientes oncológicos, reduzindo os efeitos colaterais da quimioterapia e exercendo ação imunomoduladora.