

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 31/12/2020.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Aline Evangelista Santiago

**COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE
CITOCINAS, QUIMIOCINAS E MICROPARTÍCULAS
EM MULHERES COM CÂNCER DE MAMA E DE
OVÁRIO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia.

Orientador: Prof. Dr. Agnaldo Lopes da Silva Filho

**Botucatu - SP
2017**

Aline Evangelista Santiago

COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE
CITOCINAS, QUIMIOCIAS E MICROPARTÍCULAS
EM MULHERES COM CÂNCER DE MAMA E DE
OVÁRIO

Dissertação apresentada à Faculdade
de Medicina, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Câmpus de Botucatu, para obtenção do
título de Mestre(a) em Ginecologia,
Obstetrícia e Mastologia.

Orientador: Prof. Dr. Agnaldo Lopes da Silva Filho

Botucatu - SP
2017

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

Santiago, Aline Evangelista.

Comparação dos níveis séricos de citocinas, quimiocinas e micropartículas em mulheres com câncer de mama e de ovário / Aline Evangelista Santiago. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Agnaldo Lopes da Silva Filho
Capes: 40101150

1. Mamas - Câncer. 2. Ovários - Câncer. 3. Citocinas. 4. Quimiocinas. 5. Carcinogênese. 6. Micropartículas derivadas de células.

Palavras-chave: Câncer de mama; Câncer de ovário; Citocinas; Micropartículas; Quimiocinas.



Dedicatória

À minha família pela compreensão das horas em que me fiz ausente e pelas palavras que me deram ânimo e perseverança para a conclusão dessa trajetória.



Agradecimento Especial

Ao meu orientador, Prof. **Agnaldo Lopes**, pelo apoio e incentivo durante toda a realização do trabalho.

Você é o grande responsável por essa conquista!

Serei sempre grata a você!



Agradecimientos

Agradeço à professora **Andrea Teixeira de Carvalho** e à equipe do Instituto René Rachou (Fiocruz), pelo apoio logístico no processamento do material coletado durante as fases do estudo, pela cortesia e disponibilidade.

Meus agradecimentos aos professores **Eduardo Batista Cândido, Angélica Nogueira e Débora Damasceno** que me auxiliaram na conclusão do trabalho.

Aos professores do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da UNESP.

Aos colegas de curso, pela companhia e amizade.

Às Dra **Sálua Oliveira Calil de Paula** e Dra **Elisa Lopes e Lages**, pela ajuda com a coleta de dados.

Aos funcionários do departamento de Pós-Graduação da UNESP, em especial à **Solange Sako Cagliari**.

À equipe do Hospital Vera Cruz pela oportunidade de desenvolvimento da pesquisa.

Aos **professores e colaboradores** do setor de Pós-Graduação da UFMG.

Às **pacientes**, a quem devo a possibilidade desse estudo.



Epígrafe

“Você nunca sabe que resultados virão da sua ação.
Mas se você não fizer nada, não existirão
resultados”.

Mahatma Gandhi



Resumo

Introdução: A concentração plasmática de citocinas, quimiocinas e micropartículas (MPs) em mulheres com câncer de mama e de ovário é uma forma não invasiva de avaliar a resposta inflamatória/regulatória sistêmica associada a esses tumores e o papel do microambiente formado na resposta pró e antitumoral na paciente. Portanto, o objetivo deste estudo foi comparar o perfil da resposta inflamatória sistêmica do câncer epitelial de ovário (CEO) e do câncer de mama através da medição de citocinas, quimiocinas e MPs, para assim avaliar se existe ou não diferença nesse padrão de resposta inflamatória sistêmica. **Métodos:** Noventa e quatro mulheres sem evidência de malignidade ($n = 30$), com câncer de mama ($n = 38$) ou câncer de ovário epitelial ($n = 26$) foram avaliadas. Foram coletadas amostras plasmáticas e de tecido tumoral. A avaliação dos marcadores inflamatórios foi realizada pela dosagem de citocinas (IL-1, IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, IL-17A, TNF- α e IFN- γ), quimiocinas (CXCL8, CXCL-9, CXCL 10, CCL 2, CCL5) e MPs (neutrófilos, leucócitos, monócitos, eritrócitos, células endoteliais, plaquetas e linfócitos) por citometria de fluxo / Cytometric Bead Array. As diferenças entre os grupos foram avaliadas por Kruskal-Wallis. As diferenças com $p < 0,05$ foram consideradas significantes. **Resultados:** Os níveis plasmáticos das citocinas pró-inflamatórias IL-6 ($p < 0,001$), TNF- α ($p = 0,004$) e IL-12 ($p = 0,0019$) foram significativamente maiores em pacientes com câncer de ovário em comparação com as mulheres com câncer de mama e com o grupo controle. Pacientes com câncer de ovário foram também associadas a maiores níveis de IL-10 ($p < 0,001$) e das quimiocinas CXCL-9 ($p < 0,001$) e CXCL-10 ($p < 0,001$) em comparação aos outros grupos. Os níveis de MPs derivados de neutrófilos aumentaram significativamente em amostras plasmáticas de pacientes com CEO em comparação com mulheres com câncer de mama e do grupo controle ($p < 0,001$). Em contraste, as MPs derivadas de células endoteliais foram menores nas pacientes com CEO em comparação com os demais grupos ($p = 0,0491$). Houve um equilíbrio entre citocinas, quimiocinas e MPs nos grupos de câncer de mama e controle. A rede de citocinas e quimiocinas inflamatórias/regulatórias em pacientes com CEO apresentou maior complexidade em relação aos demais grupos e com fortes interações nas redes entre fatores inflamatórios e imunológicos plasmáticos. Esta rede incluiu mais biomarcadores associados com correlações negativas e positivas entre eles. **Conclusão:** Este estudo é uma pesquisa promissora e original. Os resultados podem refletir as discrepâncias entre a carcinogênese no câncer de ovário e de mama, sugerindo um padrão inflamatório sistêmico maior no CEO. MPs podem servir como uma nova fonte de informação relacionada à doença.

Palavras-chave: câncer de mama, câncer de ovário, citocinas, micropartículas, quimiocinas



Lista de Siglas e Abreviaturas

CEO	– câncer epitelial de ovário
TNF	– fator de necrose tumoral
IL	– interleucina
MPs	– micropartículas
MVs	– microvesículas
miRNA	– micro RNA
VEGF	– fator de crescimento vascular endotelial
PML	– proteína de membrana latente
NF- κ B	– fator de transcrição nuclear kappa B
I κ B	– inibidores de κ B
IKK	– I κ B quinase
RNAP	– RNA polimerase
CoA	– coativadores
IFN- γ	– interferon-gamma
COEP	– Comitês de Ética e Pesquisa
UNESP	– Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho
FIGO	– Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia
CBA	– do inglês <i>Cytometric Bead Array</i>
PPP	– plasma pobre em plaquetas
Lym	– linfócitos
Leu	– leucócitos
Neu	– neutrófilos
Mon	– monócitos
Ery	– eritrócitos
End	– endotélio
Plat	– plaquetas
ICAM-1	– molécula de adesão intercelular-1
NK	– do inglês: <i>Natural Killer</i>



Lista de Figuras

Figura 1 – Representação esquemática do papel das micropartículas na progressão do câncer.....	27
Figura 2 – Representação esquemática da função do fator de transcrição nuclear Kappa B.....	28
Figura 3 – Representação esquemática da técnica de <i>Cytometric Bead Array</i>	36
Figura 4 – Exemplo de perfil dos níveis plasmáticos de quimiocinas através de microesferas de captura de mulheres com câncer de ovário por citometria de fluxo.....	38
 ARTIGO Distinct systemic inflammatory pattern in breast and ovarian cancer patients: comparative analysis of cytokines, chemokines and microparticles	
Figure 1 – Comparison of cytokines pro-inflammatory (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-12, IFN- γ), regulatory cytokines (IL-2, IL-10, IL-17a) and chemokines (CCL-2, CCL5, CXCL8, CXCL9 and CXCL10) in control group, breast and ovarian cancer patients.....	57
Figure 2 – Comparison of circulating microparticles (MPs) between control group, breast and ovarian cancer patients according to their specific cellular origin..	58
Figure 3 – Biomarkers networks in control group (A), breast (B) and epithelial ovarian cancer (C) patients according to their specific cellular origin.....	59
Tabela 1 – Characteristics of the groups studied (control group, patients with breast cancer and patients with ovarian cancer)	60



Índice

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS**LISTA DE FIGURAS**

1. INTRODUÇÃO.....	22
2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO.....	29
3. OBJETIVOS.....	31
3.1 Objetivo Geral.....	32
3.2 Objetivos Específicos.....	32
4. METODOLOGIA.....	33
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
6. Artigo - Distinct systemic inflammatory pattern in breast and ovarian cancer patients: comparative analysis cytokine, chemokine and microparticles.....	44
INTRODUCTION.....	45
PATIENTS AND METHODS.....	47
RESULTS.....	50
DISCUSSION.....	51
FIGURE AND TABLES LEGENDS.....	57
REFERENCES.....	61
7. CONCLUSÕES.....	67
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69
9. ANEXOS.....	70

8. Considerações Finais