Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Departamento de Clínica Médica

Sofia Miranda de Figueiredo Ribeiro

**Marcadores inflamatórios em pacientes com neoplasia gástrica: níveis sanguíneos e
expressão gênica**

Ribeirão Preto
2018

Sofia Miranda de Figueiredo Ribeiro

Marcadores inflamatórios em pacientes com neoplasia gástrica: níveis sanguíneos e expressão gênica

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor
Área de concentração: Investigação Biomédica
Orientadora: Profa. Dra. Selma Freire Carvalho Cunha

Ribeirão Preto
2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Ribeiro, Sofia Miranda de Figueiredo

Marcadores inflamatórios em pacientes com neoplasia gástrica: níveis sanguíneos e expressão gênica. Sofia Miranda de Figueiredo Ribeiro; Orientadora: Selma Freire de Carvalho da Cunha – Ribeirão Preto, 2018.

98f. : il

Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Departamento de Clínica Médica. 2018.

1. Neoplasia gástrica 2. Expressão gênica 3. Citocinas 4. Inflamação 5. Estado nutricional 6. Quimioterapia

FOLHA DE APROVAÇÃO

Sofia Miranda de Figueiredo Ribeiro

Marcadores inflamatórios em pacientes com neoplasia gástrica: níveis sanguíneos e expressão gênica.

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Médica, área de concentração “Investigação Biomédica”, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de doutora.

Ribeirão Preto, 14 de Março de 2018

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Selma Freire Carvalho Cunha – Orientadora
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – HCFMRP/USP

Prof. Dr. Flávio Henrique Ferreira Galvão
Faculdade de Medicina de São Paulo – HCFM/USP

Prof. Dr. Sergio Vicente Serrano
Hospital de Câncer de Barretos - Fundação PIO XII

Dr. Adilson Aparecido Faccio
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – HCFMRP/USP

Prof. Dr. Helio Vannucchi
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – HCFMRP/USP

DEDICATÓRIA

Aos meus pais José Marcio e Miriam, e ao meu irmão Pedro

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

À *Deus*, que não deixou de me amparar e iluminar meu caminho nesses anos de alegrias, mas também de tantas dificuldades.

À *minha família*. Aos meus pais, por não medirem esforços para que todos os meus objetivos e sonhos fossem alcançados. Pelas palavras de incentivo, pela compreensão e carinho ao longo dessa caminhada. Ao meu adorado irmão Pedro, que apesar de nossas desavenças, sempre me mostrou o caminho certo a seguir.

À *minha estimada Prof^a. Dr^a. Selma Freire de Carvalho da Cunha*, por sua orientação iniciada ainda na graduação. Obrigada por todos os ensinamentos, não apenas acadêmicos, mas dignos da pessoa íntegra que é. Agradeço do fundo do coração pela confiança e por acreditar no meu desenvolvimento pessoal e profissional. Agradeço também pelo apoio quando eu mais precisei, pelo carinho, compreensão e extrema dedicação. Obrigada pela oportunidade que a senhora me proporcionou em finalizar mais uma etapa.

Às *minhas amigas de laboratório Bruna Moraes e Paula Takeuchi*, pelos incontáveis conhecimentos transmitidos, principalmente na área de expressão gênica, e pelo apoio incondicional nos momentos de alegria e tristeza. Obrigada pela amizade e paciência que tiveram comigo durante todo este tempo. Sem vocês, a trajetória seria mais árdua.

À *minha amiga de laboratório Susana Merino*, que trilhou comigo praticamente todas as experiências deste doutorado, dividindo as angústias, as incertezas e as conquistas.

Aos *colegas Camila Bitu, Carolina Nicoletti, Fernanda Domenice, Fernanda Leite, Flávia Tremeschin, Livia Taverna, Marcela Pinhel, Nathália Yumi, Paulin Sanon, Roberta Knack e Vítor Caressatto*, pelas trocas de experiências e momentos de descontração.

À *Monica Meirelles e Rosário Unamuno*, pelo apoio técnico, além da amizade e carinho.

À *equipe da Gastrocirurgia do HC-FMRP, desde aos auxiliares de enfermagem, residentes e médicos contratados. Em especial ao Prof. Dr. Ajith Kumar Sankarankutty*, pela colaboração despendida e auxílio na seleção dos voluntários desta pesquisa.

À *agência de fomento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)*, pelo respaldo financeiro concedendo a bolsa de doutorado e bolsa de doutorado sanduíche.

À *agência de fomento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)*, pelo respaldo financeiro concedendo o Auxílio de Pesquisa.

À *Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e à Universidade de São Paulo*, que tanto contribuiu para a minha formação profissional e pessoal desde a graduação. E ao colaborador desta Universidade, *Emerson Quirino Oliveira*, da Secretaria da Pós-Graduação do Departamento de Clínica Médica.

E aos *voluntários da pesquisa*, pela disponibilidade, carinho e imenso aprendizado de vida. Sem eles, nada disso seria possível.

EPÍGRAFE

*“Toda pessoa deveria ser aplaudida de pé pelo menos uma vez na vida,
porque todos nós vencemos o mundo”.*
(August Pullman)

RESUMO

Ribeiro, SMF. Marcadores inflamatórios em pacientes com neoplasia gástrica: Níveis sanguíneos e expressão gênica. 2017. 98f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

Introdução: O câncer gástrico tem alta incidência. Seu quadro clínico é silencioso e sua malignidade é alta, o que tornam seu prognóstico reservado. A inflamação tem papel fundamental no desenvolvimento e na progressão da doença neoplásica, induzida por citocinas inflamatórias produzidas pelo tumor e/ou liberadas pelo sistema imune. Nos últimos anos, tem sido documentada a variabilidade na expressão gênica de citocinas inflamatórias na doença neoplásica. **Objetivos:** Em amostras de sangue periférico de pacientes com neoplasia gástrica, avaliar a concentração do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), dos receptores solúveis tipo 1A e 1B do fator de necrose tumoral (TNFR1A e TNFR1B), da interleucina 6 (IL-6), da interleucina 1 beta (IL-1 β), do receptor solúvel da interleucina 1 (IL-1R), do interferon-gama (INF- γ) e interleucina 10 (IL-10), além da expressão gênica dessas citocinas, da zinco-alfa2-glicoproteína (ZAG) e do receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama (PPAR- γ). Além disso, o estudo visou identificar possíveis diferenças nos dados avaliados entre os pacientes que foram ou não submetidos à quimioterapia neoadjuvante. **Casuística:** O estudo transversal foi conduzido com 25 pacientes (Grupo Câncer) com adenocarcinoma gástrico. Numa etapa posterior, esses sujeitos foram subdivididos em Subgrupos Sem-quimioterapia (n=15) e Subgrupo Quimioterapia (n=10). Todos os voluntários estavam no período pré-operatório. O estudo incluiu também 15 pacientes em pré-operatório imediato de herniorrafia eletiva (Grupo Controle). **Métodos:** A avaliação da ingestão, o estado clínico e nutricional foram avaliados, além das dosagens de citocinas TNF- α , IL-6, IL-1 β , INF- γ , IL-10, de receptores solúveis TNFR1A, TNFR1B e IL-1R. Determinou-se a expressão do RNAm do *TNF- α* , *IL-6*, *INF- γ* , *IL-10*, de receptores solúveis *TNFR1A*, *TNFR1B*, *IL-1R*, da *ZAG* e do *PPAR- γ* no sangue total. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparar grupos e subgrupos de pacientes. **Resultados:** Os pacientes do Grupo Câncer apresentaram menor ingestão de proteínas, vitamina B₁₂, ferro e zinco em relação aos controles, assim como valores mais baixos de massa livre de gordura. Perda de peso maior que 10% foi documentada em 32% dos pacientes com adenocarcinoma gástrico. Em relação ao Grupo Controle, o Grupo Câncer apresentou menores valores séricos de proteínas totais, ferro, zinco, vitamina A e E, além de maiores níveis de proteína C-reativa. As concentrações séricas de TNF- α , TNFR1A, TNFR1B, IL-6, IL-1 β e IL-10 foram maiores no

Grupo Câncer em relação aos controles. A comparação entre subgrupos mostrou que a concentração sérica de IL-1 β foi maior no Subgrupo Quimioterapia. A expressão do RNAm de *TNFR1A*, *INF- γ* , *IL-10* e *PPAR- γ* em sangue total foi maior no Grupo Câncer em relação ao Grupo Controle. Não foram observadas alterações na concentração sérica de IL-1R, assim como na expressão do RNAm de *IL-1R* e de *ZAG* em sangue total nos grupos e subgrupos do estudo. **Conclusões:** As alterações na ingestão alimentar, na composição corporal e nos marcadores bioquímicos de resposta inflamatória sistêmica foram evidentes em pacientes com câncer gástrico, além do aumento nos níveis séricos de TNF- α , TNFR1A, TNFR1B, IL-6, IL-1 β e IL-10 e na expressão do RNAm de *TNFR1A*, *INF- γ* , *IL-10* e *PPAR- γ* em sangue total. Exceto pelos valores séricos mais elevados de IL-1 β , a quimioterapia não resultou em mudanças na concentração sérica e na expressão de RNAm das citocinas inflamatórias avaliadas.

Palavras-chave: Neoplasia gástrica, Expressão gênica, Citocinas, Inflamação, Estado nutricional, Quimioterapia.

ABSTRACT

Ribeiro, SMF. **Inflammatory markers in patients with gastric cancer: blood levels and gene expression.** 2017. 98 p. Thesis (Doctorate Degree), Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Brazil, Ribeirão Preto.

Introduction: Gastric cancer has a high incidence. Its clinical symptoms and signals are silent and its malignancy is high, which makes its prognosis reserved. Inflammation plays a key role in the development and progression of neoplastic disease, induced by inflammatory cytokines produced by the tumor and/or released by the immune system. In recent years, the variability in the gene expression of inflammatory cytokines in neoplastic disease has been documented. **Objectives:** To assess in peripheral blood samples from patients with gastric neoplasia the concentration of tumor necrosis factor alpha (TNF- α), soluble type 1A and 1B receptors of tumor necrosis factor (TNFR1A and TNFR1B), interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin 1 (IL-1R), interferon-gamma (INF γ) and interleukin-10 (IL-10), and the gene expression of these cytokines, of zinc-alpha-2-glycoprotein (ZAG) and gamma peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR- γ). **Casualistic:** The cross-sectional study was conducted with 25 patients with gastric adenocarcinoma (Cancer Group). At a later stage, these subjects were subdivided into Subgroups, Without Chemotherapy (n = 15) and Chemotherapy (n = 10). All volunteers were in the preoperative period. The study also included 15 patients in the immediate preoperative period of elective herniorrhaphy (Control Group). **Methods:** Intake evaluation, clinical and nutritional status, as well as the dosages of TNF- α , IL-6, IL-1 β , INF- γ , IL-10, soluble receptor of TNFR1A, TNFR1B and IL-1R cytokines. The mRNA expression of *TNF- α* , *IL-6*, *INF- γ* , *IL-10*, soluble receptors *TNFR1A*, *TNFR1B* and *IL-1R*; *ZAG* and *PPAR- γ* were determined in whole blood. The Mann-Whitney test was used to compare groups and subgroups of patients. **Results:** Patients in the Cancer Group had lower intakes of proteins, vitamin B12, iron and zinc than control subjects, as well as lower values of fat-free mass. Weight loss greater than 10% was documented in 32% of patients with gastric cancer. In relation to the Control Group, the Cancer Group presented lower serum levels of total proteins, iron, zinc, vitamin A and E, in addition to higher levels of C-reactive protein. Serum concentrations of TNF- α , TNFR1A, TNFR1B, IL-6, IL-1 β and IL-10 were higher in the Cancer Group than in controls. The comparison between subgroups showed that the serum concentration of IL-1 β was higher in the Chemotherapy Subgroup. The mRNA expression of *TNFR1A*, *INF- γ* , *IL-10* and *PPAR- γ* in whole blood was higher in the Cancer Group than in the Control Group. No changes were observed in serum concentration of IL-1R, as well as in the mRNA expression of *IL-1R* and *ZAG* in whole blood in the groups and subgroups studied. **Conclusions:** Changes in dietary intake, body composition and biochemical markers of systemic inflammatory response were evident in patients with gastric cancer, in addition, the increased serum levels of TNF- α , TNFR1A, TNFR1B, IL-6, IL-1 β and IL-10; and the higher mRNA expression of *TNFR1A*, *INF- γ* , *IL-10* and *PPAR- γ* in whole blood. The mRNA expression of *ZAG* in whole blood was similar across all study groups. Except for the higher serum IL-1 β values, chemotherapy did not result in changes in serum concentration and mRNA expression of the inflammatory cytokines evaluated.

Keywords: Stomach neoplasms, Gene expression, Cytokines, Inflammation, nutritional status, Chemotherapy

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% (IC95%) das citocinas inflmatatórias e seus receptores no Grupo Câncer, de acordo com a presença ou não de quimioterapia no período pré-operatório.....	44
Figura 2. Média geométrica e intervalo de confiança de 95% (IC95%) da expressão gênica de citocinas inflamatórias e seus receptores nos gupos Controle e Câncer.....	45
Figura 3. Média geométrica e intervalo de confiança de 95% (IC95%) da expressão gênica de citocinas inflamatórias e seus receptores de pacientes dos subgrupos do Grupo Câncer, de acordo com a presença ou não de quimioterapia no período pré-operatório.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características demográficas, estadiamento tumoral e comorbidades associadas dos pacientes do Grupo Câncer.....	32
Tabela 2. Características demográficas e comorbidades associadas pacientes do Grupo Controle.....	33
Tabela 3. Média geométrica e intervalo de confiança 95% (IC 95%) da ingestão alimentar e da composição corporal de pacientes dos grupos Controle e Câncer e subgrupos do Grupo Câncer, de acordo com a presença ou não de quimioterapia no período pré-operatório.....	40
Tabela 4. Média geométrica e intervalo de confiança 95% (IC 95%) dos dados laboratoriais de pacientes dos grupos Controle e Câncer e subgrupos do Grupo Câncer, de acordo com presença ou não de quimioterapia no período pré-operatório.....	41
Tabela 5. Média geométrica e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) dos níveis séricos de citocinas inflamatórias de pacientes do Grupo Controle e Câncer.....	43

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

® - Marca registrada

µl: microlitro

ALT: alanina aminotransferase

AMPc: monofosfato cíclico de adenosina (*cyclic adenosine monophosphate*)

AST: aspartatoaminotransferase

BIA: impedância bioelétrica

cDNA: ácido desoxirribonucleico complementar (*complementary deoxyribonucleic acid*)

CLLFe: capacidade latente de ligação do ferro

Ct: *Cycle Threshold*

DNA: ácido desoxirribonucleico (*deoxyribonucleic acid*)

DRI: ingestão dietética de referência (*Dietary Reference Intakes*)

EIF2AK2F: eucariótica 2-α quinase

F: feminino

Fc: fração cristalizável (*crystal fraction*)

FMRP-USP: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

FOLFOX: regime quimioterápico que faz uso de ácido folínico, fluoracil e oxaliplatina

HAS: hipertensão arterial sistêmica

HPLC: cromatografia líquida de alta performance (*High performance liquid chromatography*)

IL-1: interleucina 1

IL-1β: interleucina 1 beta

IL-1R: receptor solúvel da interleucina 1

IL-6: interleucina 6

IL-10: interleucina 10

IMC: índice de massa corporal

INF-γ: interferon gama

JAK-STAT: *Janus tyrosine kinase-signal transducer and activator of transcription*

kcal: quilocalorias

kg: quilograma

kHz: quilohertz

M: masculino

mF: millifarad

mg: miligrama

miR: micro RNA

miR-155: micro RNA-155

NF- κ B: fator nuclear kappa-beta (*nuclear factor kappa-beta*)

nm: nanômetro

PCR: proteína C-reativa

PCT: prega cutânea tricípital

PKR: proteína quinase R (*Protein kinase R*)

PPAR- γ : receptor ativado pelo proliferador de peroxissoma gama (*Peroxisome proliferator-activated receptor gamma*)

PPARs: receptores ativados pelo proliferador de peroxissoma (*Peroxisome proliferator-activated receptors*)

RBP: proteína transportadora do retinol

RNA: ácido ribonucleico (*ribonucleic acid*)

RNA_m: ácido ribonucleico mensageiro (*messenger ribonucleic acid*)

rpm: rotações por minuto

RT-qPCR: reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa quantitativa

SHIP1: gene SH2 membro da inositol polifosfato-5-fosfatase

TNFR: receptor solúvel do fator de necrose tumoral (*soluble tumor necrosis factor receptor*)

TNF- α : fator de necrose tumoral alfa (*tumor necrosis factor alpha*)

TNFR1A: receptor tipo 1 do fator de necrose tumoral (*tumor necrosis factor receptor 1*)

TNFR1B: receptor tipo 2 do fator de necrose tumoral (*tumor necrosis factor receptor 2*)

TM - Marca do produto (*Trade Mark*)

UV: ultravioleta

V: volts

VCM: volume corpuscular médio

WHO: *World Health Organisation*

ZAG: zinco-alfa2-glicoproteína

SUMÁRIO

I	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	<i>Epidemiologia e tratamento da neoplasia gástrica.....</i>	15
1.2	<i>Comprometimento do estado nutricional na neoplasia.....</i>	17
1.3	<i>Estresse inflamatório na resposta tumoral.....</i>	18
1.4	<i>Quimioterapia e inflamação.....</i>	26
1.5	<i>Utilização do sangue na análise da expressão gênica.....</i>	26
II	JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE DO ESTUDO.....	28
III	OBJETIVOS.....	29
3.1	<i>Objetivo geral.....</i>	29
3.2	<i>Objetivos específicos.....</i>	29
IV	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1	<i>Local e aspectos éticos.....</i>	30
4.2	<i>Casuística e critérios de inclusão e de exclusão.....</i>	30
4.3	<i>Avaliação da ingestão nutricional e identificação dos sintomas gastrointestinais...</i>	34
4.4	<i>Avaliação da composição corporal.....</i>	34
4.5	<i>Avaliação laboratorial.....</i>	34
4.6	<i>Ensaio do Multiplex para quantificação das citocinas inflamatórias.....</i>	36
4.7	<i>Extração de RNA do sangue total.....</i>	36
4.8	<i>Transcrição reversa (cDNA).....</i>	36
4.9	<i>qPCR em tempo real.....</i>	37
4.10	<i>Análise estatística.....</i>	37
V	RESULTADOS.....	38
VI	DISCUSSÃO.....	49
6.1	<i>Ingestão alimentar.....</i>	49
6.2	<i>Composição corporal.....</i>	50
6.3	<i>Dados laboratoriais.....</i>	52
6.4	<i>Marcadores inflamatórios.....</i>	54
6.5	<i>Forças e limitações do estudo.....</i>	64
VII	CONCLUSÃO.....	65
VIII	REFERÊNCIAS.....	67
	APÊNDICE A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	89
	APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	93
	ANEXO A - Valores de referência da ingestão diária energética, macro e micronutrientes.	97
	ANEXO B - Faixa de normalidade da composição corporal.....	97
	ANEXO C – Valores de normalidade de exames bioquímicos.....	98

I. INTRODUÇÃO

1.1. Epidemiologia e tratamento da neoplasia gástrica

O câncer constitui um conjunto de doenças em que há crescimento e divisão desordenados de células em consequência da quebra dos mecanismos reguladores responsáveis pela proliferação, diferenciação e sobrevivência celulares normais. As mutações genéticas, as anomalias citogenéticas, as alterações epigenéticas e fenotípicas causam dano no DNA, o que leva à carcinogênese. A neoplasia maligna é uma doença ameaçadora à vida, pois as células anormais adquirem a capacidade de invadir tecidos adjacentes, disseminar-se por via linfática e hematogênica, atingir os linfonodos regionais e órgãos distantes (Hanahan & Weinberg, 2011; Hajdu & Tang, 2015). O câncer é uma das causas de mortalidade mais importantes no mundo e a segunda causa de morte após as doenças cardiovasculares (WHO, 2007).

No Brasil, o câncer gástrico aparece em terceiro lugar na incidência entre homens e quinto em mulheres, sendo que 65% dos pacientes diagnosticados têm mais de 50 anos. Mais de 90% dos cânceres gástricos são adenocarcinomas, com maior localização na região do antro do estômago (INCA, 2015). Os sinais e sintomas do tumor gástrico são inespecíficos e geralmente incluem hiporexia, perda ponderal, dor abdominal, sensação de empachamento após ingestão alimentar, indigestão, náusea, vômito com ou sem sangramento e anemia (American Cancer Society, 2013; Muraro, 2003; Campelo & Lima, 2012). O câncer gástrico em estágio inicial raramente causa sintomas. Esta é uma das razões pelas quais o diagnóstico deste tipo de neoplasia é difícil nos estágios iniciais da doença. Mesmo nos Estados Unidos da América, quatro em cada cinco pacientes apresentam metástases na ocasião do diagnóstico do câncer gástrico (American Cancer Society, 2013).

As taxas de mortalidade pelo câncer gástrico são mais elevadas nos países asiáticos e latino-americanos, onde o diagnóstico é feito em estágios tardios, resultando em baixas taxas de sobrevivência (Sanches-Zauco et al, 2017). Durante o período de 2005 a 2009, a sobrevida média global em cinco anos foi alta na Coreia do Sul (58%) e no Japão (54%). Por outro lado, a sobrevida em cinco anos é em torno de 40% em países como República de Maurício, 33% na Áustria e Bélgica e 31% na China. No Brasil, a sobrevida em cinco anos diminuiu entre os períodos de 1995-1999 e 2005-2009 de 33% para 25%, respectivamente (INCA, 2015).

A ressecção cirúrgica é a base do tratamento do câncer gástrico, mas a abordagem terapêutica é multimodal (Fukuda et al, 2015), incluindo a quimioterapia perioperatória e adjuvante, e a quimiorradiação. Quando o tumor gástrico é ressecável e a exereses de

linfonodos satélites é possível, o prognóstico pode ser melhor (Orditura et al, 2014). O objetivo da cirurgia paliativa para o câncer gástrico do estágio IV é aliviar os sintomas que pioram a qualidade de vida do paciente, incluindo a dor provocada pelo tumor, a hemorragia e a obstrução tumoral (Sadi et al, 2006).

Além do fato que muitas vezes o diagnóstico de câncer gástrico é feito quando o tumor é disseminado, mesmo após ressecção tumoral mais de metade dos pacientes com câncer gástrico apresentam recidiva do tumor ou metástases. Em parte, isso justifica o fato que a sobrevida mediana raramente ultrapassa os 12 meses; na configuração metastática, a sobrevida de 5 anos é inferior a 10% (Orditura et al, 2014). Estes altos níveis de mortalidade por câncer gástrico podem ser atribuídos à alta incidência de invasão serosa, invasão direta nos órgãos adjacentes e peritônio, metástase linfonodal e à distância (Kwon et al, 2012).

O câncer gástrico é uma doença multifatorial resultante de fatores ambientais e genéticos. O consumo de alimentos conservados no sal e de defumados, a obesidade, o etilismo e o tabagismo têm sido apontados como fatores de risco para o câncer de estômago (INCA, 2015). A inflamação crônica da mucosa gástrica induzida por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) tem sido implicada na etiologia do câncer gástrico (Correa, 1988) por induzir atrofia gástrica e hipocloridria (Hold et al, 2007). Embora esta infecção seja generalizada em toda a população humana mundial, apenas cerca de 1-2% dos indivíduos expostos progridem para o câncer gástrico (Scholte et al, 2002). Assim, além dos fatores de virulência da bactéria, os padrões genéticos do hospedeiro, principalmente aqueles que regulam a resposta imunológica e inflamatória, também podem contribuir para uma progressão neoplásica (Barbosa et al, 2009). Polimorfismos genéticos em genes que codificam citocinas pró e anti-inflamatórias têm sido associados com um aumento na síntese dessas interleucinas e têm sido sugeridas como um fator determinante da hipocloridria relacionada à maior susceptibilidade ao câncer (El-Omar, 2001; Perez-Perez et al, 2005).

A vigilância imunológica do câncer é um processo importante para eliminar células tumorais (Amadei et al, 2012). Ocorre aumento no número de linfócitos T nos tecidos tumorais, o que está significativamente correlacionado com menor frequência de metástase, recorrência e sobrevivência, apesar dos relatórios polêmicos existentes (Kinoshita et al, 2013; Hong et al, 1995). No entanto, os tumores têm a capacidade de escapar da vigilância imunológica.

1.2. Comprometimento do estado nutricional na neoplasia

Já no momento do diagnóstico, cerca de 80% dos pacientes com câncer apresentam algum grau de comprometimento nutricional, atribuído ao desequilíbrio entre o consumo alimentar e as necessidades de nutrientes e à resposta do hospedeiro ao tumor (Inui et al, 2002). A perda de peso é freqüente na doença maligna, principalmente nas neoplasias do trato gastrointestinal superior (Butters et al, 1996), sendo considerada um fator de risco nutricional (Meguid et al, 1990). Alguns marcadores do estado nutricional como o índice de massa corporal (IMC) (Zhang et al, 2013), a albumina sérica (Fiala et al, 2016; Edge et al, 2009), o índice nutricional de prognóstico (calculado com base na albumina sérica e nos linfócitos totais) (Peng et al, 2013) e a perda de peso corporal pré-operatória possuem valor prognóstico em doenças malignas, incluindo no câncer gástrico (Jiang et al, 2014). Em 1200 pacientes com câncer gástrico, houve associação entre o menor IMC com uma pior taxa de sobrevivência nos pacientes com estágio III e IV (Chen et al, 2015).

A subnutrição está associada com a baixa qualidade de vida, menor resposta ao tratamento adjuvante (Salas et al, 2008; Tian & Chen, 2005), maior risco de toxicidade induzida pela quimioterapia (Fujitani et al, 2016; Cessot et al, 2011; Tian & Chen, 2005;) e pior prognóstico em pacientes com câncer gástrico (Fujitani et al, 2016; Tian & Chen, 2005). Adicionalmente, a presença de efeitos adversos da quimioterapia e seu impacto nutricional como náuseas, vômitos, diarreia e anorexia (Halpern-Silveira et al, 2010) agravam ainda mais o estado nutricional destes pacientes.

Desde o estudo clássico de Studley (1936) é conhecida a relevância da perda de peso no prognóstico, especialmente nas complicações pós-operatórias, principalmente nos pacientes com câncer no trato gastrointestinal superior (Mueller et al, 2017). Na atualidade, a avaliação nutricional de pacientes cirúrgicos tem sido objeto de inúmeras pesquisas devido à maior morbidade e mortalidade observada em pacientes subnutridos (Peng et al, 2012). Sabe-se que a subnutrição influencia diretamente no sistema imunológico, aumentando o risco de infecções e a capacidade de cicatrização. Além disso, o hipermetabolismo induzido pelo procedimento cirúrgico leva a uma maior demanda de energia e proteína, o que pode resultar ou contribuir para a piora do estado nutricional de tais pacientes (Weimann et al, 2017).

1.3. Estresse inflamatório na resposta tumoral

É bem estabelecida a existência de um elo entre a perda de peso e a inflamação sistêmica no câncer. Entretanto, os mecanismos e os efeitos dessa resposta inflamatória não são claros (Rydén et al, 2008). Nos últimos anos, tem sido enfatizado o papel da inflamação no desenvolvimento e na progressão de diferentes tipos de neoplasia, induzida pela expressão de citocinas pró-inflamatórias produzidas pelo tumor e/ou liberadas pelo sistema imunológico (Roxburgh & McMillan, 2014; Epplein et al, 2013; Blum et al, 2011; Tan et al, 2011; Argilés et al, 2009; Bing & Trayhurn, 2008; Argilés et al, 2003). No trato gastrointestinal, a associação entre a inflamação crônica e o desenvolvimento ou a progressão tumoral tem sido objeto de estudos (Ferrone & Dranoff, 2010). Existe uma interação sinérgica entre as células cancerosas gástricas e as células endoteliais em termos dos efeitos biológicos das citocinas no microambiente tumoral (Gong et al, 2018). As células tumorais, imunes (leucócitos, linfócitos e macrófagos), estromal e inflamatórias que constituem o microambiente tumoral produzem citocinas, fatores de crescimento e moléculas de adesão (Borsig et al, 2014; Kuper et al, 2000; Balkwill & Mantovani 2001). Este microambiente pode contribuir para a carcinogênese através da indução de instabilidade genômica, alterações epigenéticas e subsequente expressão genética inadequada, levando a maior proliferação celular, resistência a apoptose, angiogênese e disseminação de células cancerosas (Gong et al, 2018; Schwartzburd, 2003). O microambiente tumoral pode conferir resistência à resposta imune do hospedeiro e comprometer os efeitos de agentes quimioterápicos (Slaviero et al, 2003; Meyers et al, 2008). A resposta inflamatória local pode ser ampliada para uma resposta sistêmica. A ativação excessiva ou prolongada de macrófagos e neutrófilos resulta em produção inadequada de citocinas (Cheadle & Mercer 1996). Após a ligação a receptores específicos, as citocinas produzidas pelo tecido tumoral sensibilizam as células mononucleares do sangue periférico do hospedeiro, induzindo a expressão de outras citocinas (Chachkhiani et al, 2005; Falconer et al, 1994).

As principais citocinas que influenciam na resposta de fase aguda são a interleucina 6 (IL-6), interleucina 1 beta (IL-1 β), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interferon gama (INF- γ) (Gulen et al, 2012; O'Riordain et al, 1999). Em pacientes com neoplasias, as citocinas apresentam um padrão funcional complexo e a expressão de uma citocina pode ser induzida ou suprimida por outra (Roshani et al, 2014), cujo efeito foi demonstrado em estudos *in vitro* e *in vivo* (Nakazaki, 1992). Por exemplo, o estímulo com TNF- α aumenta a produção de IL-1, que por sua vez estimula a produção de IL-6 (Nakazaki, 1992; Carter et al, 1990).

As citocinas pró-inflamatórias são produzidas pela maioria das células do organismo, especialmente pelos macrófagos (Cavaillon, 1994). Tais células exercem um papel fundamental na imunocompetência pelo seu alto potencial secretório, sendo responsáveis pela liberação de mais de cem substâncias, como as citocinas, o óxido nítrico, o ânion superóxido e macromoléculas como os proteoglicanos (Nathan, 1987). Pertencentes ao sistema fagocítico mononuclear, os macrófagos constituem uma linha de defesa contra elementos estranhos ao organismo. Os macrófagos originam-se dos monócitos circulantes e migram para todos os tecidos corporais. São encontrados em maior quantidade em tecidos conectivos, especialmente no trato gastrointestinal, nos pulmões (interstício e alvéolos), no fígado (células de Kupffer), na pele (células de Langerhans) e no baço, onde removem as células sanguíneas senescentes. Os macrófagos também podem ser encontrados na cavidade peritoneal, onde se classificam de acordo com os estágios funcionais de sua ativação (Crawford et al, 1987). Uma vez ativados, os macrófagos sofrem alterações morfológicas e funcionais, como o aumento do volume citoplasmático e assumem um formato irregular, o que lhes confere maior aderência. As células ativadas apresentam vários marcadores específicos em sua membrana, possuem maior número de mitocôndrias e lisossomos, assim como expressam e secretam mais enzimas lisossomais e fatores de crescimento (Gordon, 1996).

As principais funções dos macrófagos estão relacionadas ao processo inflamatório, ao processamento e apresentação de antígenos, à co-ativação de linfócitos T e B, à fagocitose, à hematopoiese e ao reparo tecidual e angiogênese, além da capacidade citotóxica contra microorganismos e células tumorais (Vadiveloo et al, 2000; Cook et al, 2001). Com seus receptores de superfície, os macrófagos conseguem reconhecer, ligar-se e fagocitar elementos estranhos como leveduras, bactérias, células senescentes e células tumorais. A membrana fagocítica envolve a partícula estranha e internaliza-a em um fagossoma que se funde com um ou mais lisossomas, gerando o fagolisossoma; o conteúdo lisossomal é liberado para destruir o patógeno (Janeway et al, 2002).

Dentre os receptores de superfície celular que reconhecem partículas estranhas estão os receptores de manose, que reconhecem apenas unidades de carboidratos, internalizando glicoproteínas (Shepherd et al, 1981). Esta substância pode atuar diretamente como receptor de fagócito, por ser um receptor de superfície celular transmembrânico. Existem também os receptores de varredura, que reconhecem certos polímeros aniônicos e lipoproteínas acetiladas de baixa densidade. Alguns desses receptores de varredura atuam na remoção de hemácias “velhas” e no reconhecimento e remoção de patógenos (Janeway et al, 2002). O receptor para

β -glucanas reconhece e fagocita polímeros de carboidratos livres; segue-se a ativação dos macrófagos, que por sua vez secretam IL-1, IL-6, TNF- α , espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio (Goldman, 1988). Os receptores de Fc (fração cristalizável) e do complemento também constituem importantes sítios de reconhecimento dos macrófagos, por reconhecerem a porção Fc das imunoglobulinas e de componentes do sistema complemento, que atuam na neutralização de toxinas, vírus ou patógenos (Janeway et al, 2002). Esses mecanismos possibilitam que os macrófagos eliminem os microorganismos neutralizados e ataquem os patógenos extracelulares (Janeway et al, 2002).

Os mecanismos de ação utilizados pelos macrófagos para produzir a destruição das células-alvo dos tumores são os mesmos para morte de microrganismos infecciosos. Assim, os macrófagos são importantes mediadores da atividade antitumoral (Whitworth, 1990). Quando ativados, eles podem causar a lise de células tumorais *in vitro* sem atingir as células normais, por provável diferença na composição da membrana celular (Klimp et al, 2002). Estes mecanismos envolvem geração de espécies reativas de oxigênio, liberação de proteases, de componentes do sistema complemento e de citocinas (Pullyblank et al, 1995; Leu et al, 1991).

As citocinas são proteínas biologicamente ativas que atuam no sistema imune e na inflamação, além de outras funções corporais (Pedersen & Febbraio, 2005). As citocinas pró-inflamatórias são consideradas as principais indutoras da lipólise e da proteólise nos diversos tecidos (Batista Jr et al, 2012), além de diminuir a produção de diversos agentes anabólicos e de alterar o perfil de hormônios como a leptina, neuropeptídeo Y, melanocortina, grelina, insulina, galamina, colecistiquinina e endorfina. Tais efeitos podem comprometer o metabolismo energético, afetando o funcionamento do fígado, dos músculos e do tecido adiposo (Skipworth et al, 2010; Sthrole et al, 2010).

1.3.1. Fator de necrose tumoral alfa e seus receptores solúveis

O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória multifuncional produzida por macrófagos, células T e células *natural killers* (Shi et al, 2014). Esta citocina atua sobre diferentes tipos celulares na fisiologia normal, na doença autoimune, assim como na inflamação aguda e crônica, além de relacionar-se ao câncer (Chu, 2013; Balkwill, 2006). O TNF- α promove a progressão das células tumorais por meio da ativação do fator de transcrição nuclear κB e de outros fatores proliferativos (Balkwill, 2006; O’Riordan et al, 2005). A regulação positiva desses fatores proliferativos está ligada ao aumento da angiogênese, infiltração de células

inflamatórias e invasão tumoral (Kim et al, 2017). O TNF- α tem sido utilizado como agente antitumoral no tratamento do câncer em estudos experimentais (Tracey et al, 1999), pelos seus efeito citotóxicos que resultam em inibição do crescimento e/ou proliferação das células tumorais (Kabir et al, 1995). Acredita-se que os efeitos citotóxicos do TNF- α estejam envolvidos com a produção de ácido araquidônico, que envolve a geração de espécies reativas de oxigênio, compostos extremamente prejudiciais para o DNA (Kettelhut et al, 1987).

O TNF- α e seus receptores solúveis (TNFR1A e TNFR1B) têm sido associados com a carcinogênese (Gupta et al, 2008), uma vez que a co-expressão de TNFR1A e TNFR1B é necessária para a atividade do desenvolvimento do tumor induzido pelo TNF- α (Arnott et al, 2004). O receptor tipo 1 do TNF- α (TNFR1A) é expresso em todos os tipos celulares e contém um domínio de morte celular que ativa a via envolvida na apoptose (Zubelewicz-Szkodzinska et al, 2001). O receptor tipo 1B do TNF- α (TNFR1B) é expresso apenas em células hematopoiéticas e não possui o domínio de morte celular (Balkwill, 2009). Os receptores solúveis de TNF- α ativam genes inflamatórios, controlam a proliferação e a morte celular (Arnott et al, 2004). De maneira geral, o TNFR1A está associado com funções citotóxicas e pró-inflamatórias, causando injúria tecidual e envolvido na degradação da proteína muscular (Llovera et al, 1998). Por outro lado, o TNFR1B promove a ativação, a migração e a proliferação celular, atuando no reparo tecidual e na angiogênese (Bradley, 2008). Em modelo animal de tumor hepático, sugeriu-se que a carcinogênese depende apenas da expressão de TNFR1 (Knight et al, 2000). Acredita-se que o efeito citotóxico do TNF- α seja mediado pelo TNFR1A. Em modelo experimental de tumor de pele induzido por raios ultravioleta, a ausência tanto de TNFR1A quanto do TNFR1B inibiram o desenvolvimento do tumor (Starcher, 2000). Acredita-se que o complexo TNFR1A pode facilitar a interação do TNF- α com o TNFR1A, postulando-se que o TNFR1B é o principal transdutor de sinal do TNF- α . No entanto, outros dados demonstraram que o TNFR1A é capaz de mediar a atividade biológica de TNF- α de forma independente (Herbein & O'Brien, 2000).

As formas solúveis de receptores do TNF- α atuam como inibidores competitivos de ocorrência natural da citocina. A elevação destes receptores sugere um papel para esses fatores tanto no estado inflamatório como no não inflamatório (Aderka Et al, 1991; Bemelmens et al, 1993; Gatanaga & Granger, 1993). É possível que a presença de receptores solúveis de TNF- α no soro de pacientes com neoplasias malignas seja um mecanismo importante pelo qual as células tumorais se protegem dos efeitos tóxicos do TNF- α (Zubelewicz-Szkodzinska et al, 2000). Em pacientes com câncer, os níveis séricos das formas

solúveis dos receptores aumentam significativamente em resposta aos mesmos estímulos que induzem a produção de TNF- α . Eles são produzidos por células do sistema imunológico que se infiltram no tecido do câncer e pela própria célula cancerosa (Touitou & Haus, 1994). No entanto, as células tumorais têm uma tendência maior do que as células não malignas para produzir e liberar estes receptores solúveis na superfície celular (Burger et al, 1994). Alguns pesquisadores relataram que o INF- γ também induz o aumento da expressão de TNFR1A e TNFR1B na superfície celular (Furuta et al, 2002).

1.3.2. Interleucina 6

A IL-6 desempenha papel na inflamação, na angiogênese, na sustentabilidade e na progressão tumoral (Long et al, 2017; Wang et al, 2005; Kim et al, 2009). A IL-6 sérica é conhecida por ser produzida tanto por células hematopoiéticas quanto por células epiteliais. Tanto a IL-1 β quanto o TNF- α são capazes de induzir a produção de IL-6 a partir de células tumorais e do hospedeiro (Strassmann et al, 1993). Esta citocina desempenha papel fundamental na promoção da perda de tecido adiposo em pacientes com câncer (Rydén et al, 2008).

A IL-6 exerce vários efeitos nas células cancerosas (Kim et al, 2009). Esta citocina é considerada pleiotrópica, devido ao seu papel conflitante em relação ao crescimento de células tumorais. Tem sido bem determinado que a IL-6 induz o crescimento e a diferenciação de células imunes, a produção e expressão de outras citocinas, e é a principal indutora da produção de proteínas de fase aguda em hepatócitos humanos (Strassmann et al, 1993). A IL-6 estimula a síntese de PCR no fígado e favorece a ligação entre a PCR e as células tumorais, resultando em lise da célula neoplásica. A IL-6 induz a ativação de macrófagos em células *natural killers* e previne a apoptose de neutrófilos envolvidos nos mecanismos de destruição de células tumorais. Por outro lado, a IL-6 é uma potente citocina anti-inflamatória, envolvida nos mecanismos de defesa do hospedeiro (Ikeguchi et al, 2009). As células tumorais também produzem IL-6 (Wu et al, 1996), que estimula a proliferação (Heikkilä et al 2008) e o crescimento tumoral *in vivo* na maioria dos cânceres (Tripathi et al, 2003).

1.3.3. Interleucina 1 e seu receptor solúvel

Tem sido atribuído à IL-1 um papel de mediador inflamatório e da resposta imune. A família IL-1 inclui IL-1 α , IL-1 β e o receptor solúvel do IL-1 (IL-1R). A IL-1 α e a IL-1 β se ligam ao mesmo receptor e exibem atividades biológicas similares (Lopetuso et al, 2013). Por

este mecanismo, a IL-1 α e a IL-1 β induzem a expressão de genes pró-inflamatórios e perpetuam a inflamação (Apte & Voronov, 2008). Por outro lado, a IL-1R é uma citocina anti-inflamatória que se liga aos receptores IL-1R do tipo I e II, sem promover um sinal de ativação (Granowitz et al, 1991). A IL-1R exerce efeito competitivo antagônico com a ligação de IL-1 α e IL-1 β ao IL-1R tipo I e II, possivelmente alterando a conformação molecular do receptor (Apte & Voronov, 2008). Por esse mecanismo, a IL-1R é um inibidor fisiologicamente ativo de IL-1 (Apte & Voronov, 2008; Shishamura et al, 2000).

Nas células tumorais, a IL-1 também se liga aos receptores específicos na superfície da membrana e influencia na proliferação e na diferenciação celular (England et al, 2014). Estudo *in vitro* com células gástricas neoplásicas mostrou que a IL-1 α atua na interação entre as células neoplásicas e o microambiente tumoral, promovendo a angiogênese e o aumento do poder metastático (Gong et al, 2018). A IL-1 β está associada à ocorrência de múltiplos tumores malignos (Chen et al, 2012; Al-Tahhan et al, 2011), dentre eles, o câncer gástrico (Yin et al, 2015). Em estudos *in vitro* com células de tumor gástrico neoplásicas, a IL-1R inibiu o potencial metastático e angiogênico (Gong et al, 2018) por bloqueio de sinalização de IL-1 α e do fator de crescimento endotelial vascular (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) (Gong et al, 2018).

1.3.4. Interferon gama

O IFN- γ é produzido por linfócitos T citotóxicos ativados, macrófagos e células *natural killer* ativadas, com atividade biológica sobreposta à do TNF- α . Suas propriedades podem ser resumidas em: a) imunorregulatória; b) antiviral; c) antitumorais. O IFN- γ é uma citocina pró-inflamatória que tem sido implicada como mediador de um mecanismo extrínseco de supressão do tumor em hospedeiros imunocompetentes (Kalvakolanu & Borden, 1996; Argilés et al, 2011). Em camundongos tratados com IFN- γ , houve uma resposta antitumoral em sarcomas transplantados (Bui et al, 2006). Além disso, o IFN- γ secretado por células T *natural killer* levou a efeitos antitumorais em estudos experimentais com tumores transplantados, induzidos quimicamente ou de aparecimento espontâneo (Chang et al, 2007).

1.3.5. Interleucina 10

A IL-10 é uma citocina pleiotrópica produzida por macrófagos, células T e linfócitos B e pode estimular e/ou reprimir a resposta imune (Howard et al, 1992). A IL-10 é

considerada uma potente citocina imunossupressora com papel vital na regulação da resposta imune. A IL-10 limita o dano tecidual excessivo causado pela resposta inflamatória nas infecções bacterianas e virais. Além disso, a IL-10 exerce função supressiva pela regulação decrescente de várias citocinas pró-inflamatórias, por meio da ativação das vias de sinalização JAK-STAT (Ouyang et al, 2011). A IL-10 inibe a produção de proteína quimiotática de monócitos 1 pelos adipócitos (Biswas & Sodhi, 2002), atrai monócitos, linfócitos T e células *natural killer* para o local da inflamação e inibe a produção e a expressão de TNF- α , IL-6 e IL-1 β por monócitos cultivados (Batista Jr et al, 2012). Por outro lado, foi demonstrado que a IL-10 inibe várias funções imunes, tais como apresentação de antígenos, produção de citocinas, ativação de macrófagos e proliferação de células T específicas de antígenos. Ao interferir no antígeno, a IL-10 reduz a proliferação de células T específicas para aquele determinado antígeno. Além disso, tem sido proposto que a IL-10 desempenha um papel fundamental na capacidade oncogênica e metastática de neoplasias (Nabioullin et al, 1994; Holland & Zlotnik, 1993).

A IL-10 é uma das citocinas imunossupressoras cuja concentração está elevada no sangue de pessoas com câncer gástrico avançado (Szkardkiewicz et al, 2010; De Vitta et al, 1999; Fortis et al, 1996). Isso sugere que há incapacidade em eliminar as células neoplásicas do microambiente tumoral. De fato, as próprias células gástricas cancerosas podem secretar IL-10, o que pode explicar sua redução nos pacientes após a remoção do câncer gástrico (Wang et al, 2013).

1.3.6. Receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama

Atualmente, tem sido dada atenção especial à possível atuação dos receptores ativados pelo proliferador de peroxissoma (PPARs), mais especificamente PPAR- γ , nas condições inflamatórias crônicas e na patogênese de doenças que cursam com distúrbios no metabolismo lipídico (Jernas et al, 2006). Os PPARs são um grupo de proteínas de receptores nucleares que funcionam como fatores de transcrição, regulando a expressão de genes alvo que participam de diversos processos fisiológicos. O PPAR- γ participa da regulação das proteínas envolvidas no metabolismo da glicose, do lipídio extracelular, na oxidação de ácidos graxos e na inflamação, sendo expresso no tecido adiposo, em macrófagos e em células dendríticas (Renet et al, 2015; Tontonoz & Spiegelman, 2008; Michalik et al, 2006; Schoonjans et al, 1996).

Em humanos, o *PPAR-γ* é expresso no tecido adiposo, em células mononucleares periféricas, assim como em linfócitos e monócitos (Macias-Gonzalez et al, 2008; Desvergne & Wahli, 1999). O *PPAR-γ* atua na regulação da inflamação e na resposta imune (Lehrke & Lazar, 2005) através de sua habilidade em inibir a expressão de citocinas e direcionar a diferenciação de células imunes através de fenótipos anti-inflamatórios (Tyagi et al, 2011). Além disso, o *PPAR-γ* exerce papel na adipogênese e na função dos adipócitos, regulando a homeostase do tecido adiposo branco e induzindo a expressão de genes que promovem a absorção de ácidos graxos e triglicérides (Lehrke & Lazar, 2005). A ativação do *PPAR-γ* no tecido adiposo branco parece ser dependente do *NF-κβ*, sugerindo interação entre *NF-κβ* e *PPAR-γ* na modulação da inflamação no tecido adiposo branco induzida pela caquexia neoplásica (Batista Jr et al, 2012). Vários estudos demonstraram que os *PPARs* estão implicados na carcinogênese por meio da modulação da diferenciação celular, da capacidade de proliferação e apoptose e pela sua função de regulação do metabolismo e da inflamação (Peters et al, 2012; Roman, 2008). Outros estudos mostram a relação do *PPAR-γ* na carcinogênese gástrica relacionada com *H. pylori* (Konturek et al, 2004; Morita et al, 2001). Estudos *in vitro* têm mostrado o papel do *PPAR-γ* como um alvo terapêutico câncer gástrico (Cho et al, 2015; Kim et al, 2015; Lee et al, 2012).

1.3.7. Zinco-alfa2-glicoproteína

A ZAG é produzida pelo tecido adiposo branco e marrom (Bing et al, 2004). Essa citocina tem sido identificada como uma adipocina envolvida na mobilização e na utilização dos lipídios, atuando como moduladora da lipólise na caquexia (Cabassi & Todeschi, 2013). Tanto a ZAG quanto o fator mobilizador de lipídios ativam a lipase hormônio sensível através da via de AMPc e, assim, a liberação hidrolítica de ácidos graxos dos adipócitos (Russell & Tisdale, 2005). Em pacientes oncológicos, a secreção de ZAG pelo tecido adiposo branco correlacionou-se com o estado nutricional, mas não com a quantidade de massa gorda ou com o IMC (Rydén et al, 2012). A expressão de ZAG no tecido adiposo parece ser regulada pelo receptor de *PPAR-γ* e *TNF-α* (Bao et al, 2005; Bing et al, 2004) uma vez que o agonista do *PPAR-γ* aumentou enquanto que o *TNF-α* inibiu a expressão de ZAG nos adipócitos (Bao et al, 2005).

Em níveis elevados, esta glicoproteína tem sido utilizada como um marcador de caquexia (Bing et al, 2004). A ZAG também está envolvida na inibição do crescimento tumoral assim como na sua proliferação por meio da inibição da enzima mediadora da invasão

tumoral e ativação da apoptose (Huang et al, 2012). Também é conhecido o papel do ZAG na expressão da resposta imune (Hassan et al, 2008), podendo assim atuar na prevenção da progressão do câncer (Hassan et al, 2008). A maior expressão gênica da ZAG nos tecidos tumorais tem sido relacionada com um período maior para a recorrência e metástase da doença em câncer hepatocelular (Huang et al, 2012), de pulmão (Albertus et al, 2008) e de próstata (Hale et al, 2002), de forma que a ZAG é considerada um marcador de bom prognóstico.

1.4. Quimioterapia e inflamação

A quimioterapia é um dos métodos mais importantes na terapia de doenças malignas e sua administração causa efeitos imunossupressores (Cunliffe et al, 1989). Diferentes tipos de quimioterápicos aumentaram a sinalização de citocinas inflamatória em células imunes *in vivo* e *in vitro* (Bowen et al 2015; Zhong et al, 2006; Wood & Weymann, 2013). A capacidade dos quimioterápicos em desencadear a inflamação é em parte devido à ação citotóxica desses agentes em células tumorais e saudáveis (Wood & Weymann, 2013). A morte celular induz a adaptação do sistema imune inato ao perigo potencial, mas também induz uma resposta inflamatória (Kono & Rock, 2008).

Em estudo experimental, a infusão da droga doxorrubicina resultou em aumento dos níveis séricos de citocinas e quimiocinas, entre elas IL-1 β , IL-6 e TNF- α (Sauter et al, 2011). Acredita-se que a resposta inflamatória ao quimioterápico antraciclina é mediada, pelo menos em parte, pela promoção da síntese e liberação de IL-1 β (Sauter et al, 2011). Esta citocina seria a responsável pelos efeitos adversos da quimioterapia (Sauter et al, 2011).

1.5. Utilização do sangue na análise da expressão gênica

A maioria das células imunes peritumorais é recrutada a partir do sangue periférico. Ainda não está claro se tais células já estão programadas ou se podem mudar suas funções após atingir o microambiente tumoral. A capacidade de produção de citocinas pelas células imunes no sangue periférico e a possibilidade de sua reprogramação depois de entrar em contato com o ambiente tumoral são características fundamentais para o crescimento ou a destruição das células neoplásicas (Stanilov et al, 2012). A migração celular, que se dá pela circulação sanguínea entre os órgãos linfóides centrais e periféricos, influencia na eficácia da resposta imune nas infecções e na inflamação (Chaussabel et al, 2015). A análise de células periféricas circulantes proporciona uma plataforma para estudar o sistema imunológico

humano por meio de métodos moleculares de escala genômica, utilizados para investigar perfis transcricionais e imunológicos (Gardinassi et al, 2016).

Na atualidade, várias pesquisas conduzidas em condições clínicas diversas têm utilizado amostras de sangue para avaliar a expressão gênica em estudos de imunologia humana (Chaussabel et al, 2015) como na hepatite (Ji et al, 2003) e em doenças infecciosas (Anderson et al, 2014; Ramilo et al, 2007). Um número expressivo de publicações utiliza a expressão gênica em amostras de sangue na avaliação da patogênese do câncer (Panelli et al, 2002; Galon et al, 2013). Estudos conduzidos com amostra de sangue total de pacientes com neoplasias apontam para alterações na expressão gênica de citocinas visando o diagnóstico precoce (Zander et al, 2011; Nichita et al, 2014), a avaliação do grau de malignidade tumoral (Ponnampalam et al, 2017) e a eficácia do tratamento oncológico (Bohn et al, 2012; Florcken et al, 2014). A concentração de citocinas tem sido estudada em pacientes com diferentes tipos de neoplasias em amostras de sangue (Batista Jr et al, 2013; Amoret al, 2016; Bye et al, 2016), tecido tumoral (Matos-Neto et al, 2015) e adiposo (Matos-Neto et al, 2015; Batista Jr et al, 2013).

II. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE DO ESTUDO

O tratamento cirúrgico tem potencial curativo na neoplasia gástrica. Por influenciar no prognóstico, a intervenção nutricional deve ser instituída no período perioperatório. Entretanto, é bem documentado que a terapia nutricional convencional tem poder limitado na prevenção e na reversão das alterações do estado nutricional em pacientes oncológicos, sugerindo que a fisiopatogenia da perda de peso não se limita à oferta nutricional.

Tem sido documentado que as citocinas inflamatórias têm impacto negativo no estado nutricional, o que pode resultar em evolução desfavorável no pós-operatório. Sabe-se que as neoplasias aumentam os níveis circulantes de citocinas inflamatórias em decorrência de mudanças na expressão gênica dessas citocinas em células tumorais, peritumorais, tecido adiposo e sangue periférico. Nós não identificamos estudos que avaliem o efeito da quimioterapia neoadjuvante na produção de citocinas inflamatórias e na sua expressão gênica em sangue periférico. As drogas antineoplásicas têm efeito imunossupressor, com potencial redução na produção de citocinas inflamatórias. Por outro lado, pode haver um estímulo na produção dessas citocinas pelo aumento de substâncias tóxicas decorrentes da lise tumoral.

Nossa proposta foi investigar os níveis de citocinas anti e pró-inflamatórias e a expressão gênica de citocinas inflamatórias, dos receptores de TNF- α e IL-1, e das proteínas relacionadas ao metabolismo lipídico (ZAG e PPAR- γ) no sangue total de pacientes em pré-operatório de câncer gástrico, com ou sem quimioterapia neoadjuvante. Simultaneamente, nós avaliamos o consumo alimentar e a composição corporal, que permitiram identificar o papel das citocinas em pacientes em pré-operatório de neoplasia gástrica, independente dos outros fatores envolvidos.

A hipótese do presente estudo é que os pacientes em pré-operatório de neoplasia gástrica apresentam aumento nos níveis circulantes de citocinas inflamatórias em decorrência de mudanças na expressão gênica em células do sangue periférico, cujo efeito pode ser minimizado pela quimioterapia prévia. Tais informações poderão trazer subsídios para a compreensão das modificações nos níveis séricos de citocinas inflamatórias e sua expressão gênica no pré-operatório de ressecção tumoral do estômago.

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O objetivo geral do presente estudo foi quantificar as citocinas TNF- α , IL-6, INF- γ , IL-10, TNFR1 e TNFR2 em amostras de sangue periférico, além de analisar a expressão gênica dessas citocinas e de proteínas envolvidas no metabolismo lipídico (ZAG) em amostras de sangue total de pacientes em pré-operatório com neoplasia gástrica. Adicionalmente, o estudo visou comparar as dosagens séricas de citocinas inflamatórias e sua expressão gênica em pacientes submetidos ou não à quimioterapia neoadjuvante.

3.2. Objetivos específicos

Em pacientes no pré-operatório de neoplasia gástrica que foram ou não submetidos à quimioterapia neoadjuvante e em voluntários controles, comparar:

A ingestão alimentar habitual, a composição corporal e os dados laboratoriais de avaliação clínica e nutricional;

As citocinas inflamatórias TNF- α , IL-6, IL-1 β , INF- γ , IL-10 e os receptores solúveis do TNF- α (TNFR1A e TNFR1B) e do IL-1 (IL-1R) em amostras de sangue total;

A expressão gênica de citocinas TNF- α , IL-6, INF- γ , IL-10 e dos receptores solúveis do TNF- α (TNFR1A e TNFR1B), do IL-1 (IL-1R), e das proteínas ZAG e PPAR- γ em amostras de sangue total.

IV. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local e aspectos éticos

O estudo transversal foi conduzido no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) pela Divisão de Nutrologia do Departamento de Clínica Médica, em parceria com a Divisão de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Departamento de Cirurgia e Anatomia. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição (Protocolo nº 1.311.918) (**Apêndice A**). Todos os indivíduos recrutados foram informados sobre os objetivos e procedimentos do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), apresentado pela pesquisadora responsável (**Apêndice B**). A desistência ou o não consentimento da participação dos sujeitos na pesquisa não implicou em qualquer descontinuidade do tratamento ou mudança na rotina do atendimento médico ou da equipe multiprofissional.

4.2. Casuística e critérios de inclusão e de exclusão

A coleta de dados foi feita no período de janeiro de 2015 a agosto de 2016. Foram elegíveis para o estudo os sujeitos adultos, de ambos os gêneros, que apresentassem diagnóstico de neoplasia gástrica com indicação de ressecção tumoral feita pela equipe cirúrgica, incluindo pacientes submetidos à quimioterapia neoadjuvante. Foram excluídos da pesquisa os indivíduos com escala de *Performance* de Karnofsky menor que 60% (Crooks et al, 1991), aqueles com tratamento prévio para câncer nos cinco anos precedentes ao recrutamento (exceto carcinoma basocelular de pele), história de doença autoimune ou inflamatória crônica, quadro infeccioso em atividade, doença hepática ou renal e uso de drogas imunossupressoras. Foram também excluídos da casuística os pacientes com tumores do estroma gastrointestinal (GIST, *gastrointestinal stromal tumors*).

Obedecendo aos critérios de inclusão e exclusão, inicialmente foram recrutados 34 pacientes para participarem do estudo. Nove pacientes se recusaram à participação no estudo, de forma que a casuística final foi de 25 pacientes (Grupo Câncer). Em todos os casos, houve confirmação histológica de adenocarcinoma gástrico e a coleta de dados foi feita no pré-operatório imediato. As informações sobre o estadiamento tumoral, a classificação da droga antineoplásica e a modalidade de tratamento oncológico foram obtidas por oncologista (**Tabela 1**), a partir de informações contidas nos prontuários eletrônico dos pacientes. A classificação do estadiamento da doença na ocasião do diagnóstico foi feita a partir do protocolo proposto pela *The Union for International Cancer Control* (UICC). Esta

classificação considera as características do tumor primário, a presença de linfonodos nas cadeias de drenagem linfática do sítio tumoral e de metástase. Os pacientes foram agrupados nas categorias de estágio I, II, III e IV, sendo os estágios classificados em III e IV considerados casos de doença avançada, conforme os critérios recentes (Amin et al, 2017).

Os pacientes do Grupo Câncer foram subdivididos em dois subgrupos, de acordo com o esquema terapêutico oncológico prévio. Os pacientes que apresentavam tumor em estágio inicial, sangramento ou obstrução tumoral foram submetidos à cirurgia (Hsu et al, 2017), com programação para a quimioterapia posterior (Subgrupo Sem-quimioterapia). Os demais pacientes com neoplasia gástrica foram submetidos a três ciclos de quimioterapia com esquema ECX: epirrubicina 50mg/m² endovenoso - dia 1, cisplatina 75mg/m² endovenoso - dia 1, e oxaliplatina 1000mg/ m² via oral – dia 1 ao dia 14, antes da ressecção tumoral (Subgrupo Quimioterapia) (Yun et al, 2010). O Grupo Sem-quimioterapia foi formado por 15 pacientes, sendo 12 homens e 3 mulheres, com média de idade de 66,9 (IC95% 60,9–72,9) anos. O Grupo Quimioterapia foi formado por 10 pacientes, sendo 8 homens e 2 mulheres, com média de idade de 61,1 (IC95% 53,7–68,4) anos.

O estudo incluiu ainda voluntários do Grupo Controle, recrutados entre os pacientes submetidos à cirurgia eletiva para correção de hérnia incisional, inguinal ou umbilical, realizadas em um hospital de nível secundário que faz parte do complexo hospitalar da Instituição. Para este grupo, foram excluídos os sujeitos com perda superior a 5% do seu peso habitual nos seis meses precedentes ou obesidade, além dos mesmos critérios aplicados ao Grupo Câncer. A casuística do Grupo Controle foi composta por 15 sujeitos, sendo 13 homens e 2 mulheres, com média de idade de 58,4 (IC95% 52,4–64,4) anos. Para todos os voluntários (Grupo Câncer ou Controle), havia bom controle clínico das comorbidades associadas na ocasião da pesquisa (**Tabela 2**). Os três grupos de estudo foram pareados para o gênero ($p=1,00$) e idade ($p=0,13$).

As informações sobre as comorbidades, o consumo de bebidas alcoólicas e de tabagismo foram obtidas do formulário da Avaliação Pré-Anestésica (APA). Não havia informações sobre a duração da exposição e a quantidade de bebidas alcoólicas e de cigarro consumidos. No Grupo Câncer, 13 sujeitos apresentavam história de consumo prévio de etanol e quatro pacientes tiveram ingestão recente de bebidas alcoólicas. Ainda neste grupo, 14 sujeitos tinham história pregressa de tabagismo e quatro pacientes ainda faziam uso habitual de tabaco. No Grupo Controle, dois voluntários apresentavam história de consumo de etanol, 13 eram ex-tabagistas e quatro ainda fizeram uso do tabaco antes da internação.

Tabela 1. Características demográficas e estadiamento tumoral dos pacientes do Grupo Câncer.

Caso	Gênero	Idade	Estadio tumoral	Comorbidades associadas
Subgrupo Sem-quimioterapia				
1	Masculino	66	IV	HAS, IAM prévio
2	Feminino	49	IV	-
3	Masculino	63	III	HAS, DM2
4	Masculino	57	I	HAS
5	Masculino	79	IV	-
6	Feminino	82	II	DM2
7	Masculino	91	I	HAS
8	Masculino	49	I	-
9	Masculino	78	II	Arritmia, anemia
10	Masculino	70	II	HAS, hipotireoidismo
11	Masculino	70	IV	-
12	Masculino	78	III	HAS
13	Masculino	57	III	-
14	Masculino	43	I	-
15	Masculino	72	IIA	HAS
Subgrupo Quimioterapia				
1	Feminino	63	I	HAS
2	Masculino	65	I	-
3	Masculino	68	IV	-
4	Feminino	47	II	-
5	Masculino	60	I	HAS, DM2, dislipidemia
6	Masculino	73	IV	-
7	Masculino	57	III	HAS, asma, hipotireoidismo
8	Masculino	62	II	-
9	Masculino	74	II	-
10	Masculino	42	IV	-

DM2: diabetes melito tipo 2; HAS: hipertensão arterial sistêmica; IAM: infarto agudo do miocárdio

Tabela 2. Características demográficas e comorbidades associadas pacientes do Grupo Controle.

Caso	Gênero	Idade	Comorbidades associadas
1	Masculino	43	-
2	Masculino	60	-
3	Feminino	57	DM2, HAS, dislipidemia
4	Masculino	47	-
5	Masculino	65	HAS, dislipidemia
6	Masculino	54	-
7	Masculino	57	-
8	Feminino	63	HAS, DM2, fibromialgia, varizes de membros inferiores
9	Masculino	57	DM2
10	Masculino	70	HAS, hipotireoidismo
11	Feminino	59	DM2, dislipidemia
12	Masculino	60	HAS, dislipidemia
13	Masculino	43	-
14	Masculino	78	HAS
15	Masculino	63	-

DM2: diabetes melito tipo 2; HAS: hipertensão arterial sistêmica

4.3. Avaliação da ingestão nutricional e identificação dos sintomas gastrointestinais

No momento da internação, no pré-operatório imediato, os indivíduos foram questionados quanto a sua ingestão alimentar habitual nas três semanas precedentes. A quantificação da ingestão diária dos nutrientes foi feita utilizando-se o *software* AVANUTRI (versão 4.0, Avanutri & Nutrição Serviços e Informática Ltda Me, Rio de Janeiro, Brasil). Os valores de ingestão dos macro e micronutrientes são expressos em valores absolutos. As recomendações nutricionais de energia e nutrientes são apresentadas no **Anexo A**.

4.4. Avaliação da composição corporal

Os pacientes foram questionados quanto ao peso habitual e história de perda de peso no período de seis meses precedentes. As medidas antropométricas foram realizadas de acordo com técnicas padronizadas e incluíram a aferição da estatura (m) e do peso corporal (kg), a partir das quais foi calculado o índice de massa corporal [$IMC = (\text{peso}/(\text{altura})^2]$ (**Anexo B**).

A impedância bioelétrica (BIA) foi realizada utilizando o aparelho *Quantum BIA 101® Q - RJL System*, (Michigan, EUA). Foi utilizada uma corrente constante, alternada, de baixa amplitude (-1mF) e alta frequência (50 kHz) aplicada ao corpo por eletrodos de superfície, em pontos pré-determinados no dorso da mão e pé ipsilateral. Foram utilizados os cuidados técnicos necessários, rigor no posicionamento do indivíduo e dos eletrodos, afastamento dos membros para evitar contato com o tórax e abdome e o emprego de eletrodos específicos de baixa impedância. A resistência foi medida numa escala de 0-1000 Ω e reactância em 0-200 Ω . Os valores de massa magra e massa gorda são expressos em valores absolutos e percentuais, em relação ao peso corporal total. O índice de massa livre de gordura (IMLG) foi calculado pela divisão entre a massa corporal magra (kg) e altura (m²). Valores baixos do IMLG foram considerados quando <15 ou <17 kg/m² para mulheres e homens, respectivamente (Schultz et al, 2002).

4.5. Avaliação laboratorial

O sangue venoso foi obtido na veia antecubital com agulhas descartáveis e tubos a vácuo, após 12 horas de jejum noturno. As amostras de sangue utilizadas para dosagens de zinco e cobre plasmático foram coletadas em tubos *metal free* (Vacuttainer sem aditivo®),

#368380, BD) e para as demais dosagens, foram utilizados tubos com anticoagulantes (Vacutainer k2 EDTA 7,2mg®, #367861, BD). Os tubos destinados para as dosagens de vitaminas foram fotoprotégidos e aqueles destinados para as dosagens de citocinas foram mantidos em recipiente com gelo até o preparo das amostras. Para extração de RNA foi utilizado tubos *PAXgene* (Qiagen), seguindo protocolo do fabricante.

Os exames laboratoriais incluíram as dosagens de ureia sérica (método cinético UV com leitura em comprimento de onda de 340 nm); creatinina sérica (método cinético com leitura em comprimento de onda de 500 nm); proteínas totais séricas (método colorimétrico com leitura em comprimento de onda de 540 nm); albumina sérica (método colorimétrico com leitura em comprimento de onda de 625 nm). As dosagens de ALT (alanina aminotransferase) e AST (aspartato aminotransferase) séricas foram realizadas pelo método UV otimizado, com leitura em comprimento de onda de 340 nm. A ferritina sérica foi dosada por ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente de duas voltas em analisador de sistema IMMULITE 2000 (Siemens Healthcare GmbH). O ferro sérico e as bilirrubinas séricas foram dosadas por teste colorimétrico em autoanalisador KoneLab CT600i (Wiener Lab, Argentina) com comprimento de onda de 600 e 546 nm, respectivamente. As concentrações de transferrina foram calculadas a partir de equação que considera o ferro sérico e a capacidade latente de ligação do ferro (CLLFe), dosado pelo método colorimétrico, utilizando o aparelho CT600i Konella B - Wiener lab, Rosario, Argentina):

$$\text{Transferrina (mg/dL)} = [(\text{CLLFe} + \text{ferro sérico}) \times 0,8] - 43$$

O hemograma foi feito com aparelho ABX Pentra DX120 (Horiba Medical, Kyoto, Japão) por impedância, fotometria, impedância de fluxo focalizado, absorção de luz, dispersão de luz e fluorescência. A partir dos resultados obtidos no hemograma, foram selecionadas as concentrações de hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM) e contagem total dos linfócitos.

As concentrações de zinco e cobre plasmáticos foram dosadas por espectrofotometria de absorção atômica de chama (Varian, modelo AA200, Melbourne, Australia) em comprimento de onda de 213,9 nm e 327,4 nm, respectivamente. As análises de ácido fólico, ferritina e vitamina B₁₂ foram realizadas por meio de *kit* IMMULITE®, com imunoensaio enzimático quimioluminescente competitivo em fase líquida.

As concentrações séricas de vitamina A e E foram detectadas pelo método de Arnaud e colaboradores (1991). As dosagens foram feitas por HPLC (SPD 20A, UV/VIS,

Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), usando uma coluna C-18 Shimpack CLC-ODS 4.6x 15cm, pré-coluna 4mmx1cm e uma fase móvel com taxa de fluxo de 1mL/min, em comprimento de onda de 325nm para a vitamina A e 292 nm para a vitamina E.

Os valores de normalidade para os exames laboratoriais realizados no presente estudo encontram-se no Anexo C.

4.6. Ensaio do Multiplex para quantificação de citocinas

Foram dosadas as citocinas TNF- α , IL-6, INF- γ , IL-10, IL-1R, TNFR1A e TNFR1B no aparelho Luminex 200tm (Luminex Corporation, Austin, TX) no sangue periférico. As medições e análises dos dados de todos os ensaios foram realizados com o *MultiPlex System* em combinação com o *software* Gerenciador de MultiPlex System (Luminex Corporation, Austin, TX).

4.7. Extração de RNA do sangue total

O RNA foi extraído utilizando o *kitPAXgene[®] Blood RNA* (#50, v2, Qiagen) de acordo com as orientações do fabricante. As amostras foram armazenadas em congelador à -80°C. O RNA total foi quantificado em espectrofotômetro (*Thermo scientific NanoDropTM 1000 Spectrophotometer*), medindo-se a absorbância nos comprimentos de onda de 230, 260 e 280 nm, para avaliação do grau de pureza. A integridade do RNA total foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 1%. As amostras de RNA total extraídas foram armazenadas a -80°C até a síntese de cDNA.

4.8. Transcrição reversa (cDNA)

O cDNA foi sintetizado por meio da transcrição reversa, a partir do RNA total extraído do sangue total, na presença de transcriptase reversa e do iniciador oligo (dt), conforme instruções do fabricante (*High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit*, Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). *Okita* permite a transcrição reversa em formato otimizado para a geração de primeira cadeia de cDNA, quando mantido em alta temperatura.

4.9. *qPCR em tempo real*

As reações de *qPCR* foram realizadas por detecção TaqMan (*Life Technologies*®) em aparelho ABI Prism 7500 Fast (*Applied Biosystems*®), seguindo o protocolo do fabricante. Os níveis relativos de transcritos foram determinados utilizando-se gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (Gapdh- Hs02786624_g1) e beta-actina (Actb- Hs 0106060665_g1) como genes de referência. A concentração utilizada de cDNA foi de 50ng para 20 µl do volume final da reação.

Foram escolhidos 9 pares de sondas (*Life Technologies*®) para a análise de expressão de genes que codificam proteínas relacionadas com a via inflamatória. Os genes selecionados foram: *IL-6* (Hs00985639_m1), *TNF-α* (Hs01113624_g1), *INF-γ* (Hs00989291_m1), *IL-10* (Hs00961622_m1), *TNFR1A* (Hs01042313_m1), *TNFR1B* (Hs00961750_m1), *IL-1R* (Hs00893626_m1), *ZAG* (Hs00426651_ml) e *PPAR-γ* (Hs01115513_m1).

Os experimentos de quantificação relativa de expressão gênica foram realizados em triplicata e os resultados foram calculados pelo método $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak e Schmittgen, 2001), utilizando inicialmente o *Thermo Fisher Cloud software* (Thermo Fisher Scientific®, Waltham, MA, EUA).

4.10. *Análise estatística*

O tratamento estatístico foi feito com o auxílio do programa *Statistica*® (versão 8.0, StatSoft Inc, Tulsa, Oklahoma, EUA). Inicialmente, o teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a normalidade das variáveis em cada grupo. Os testes empregados na comparação dos Grupos Câncer e Controle foram feitos pelo Test t e Mann-Whitney para dados paramétricos e não paramétricos, respectivamente. Quando os pacientes com neoplasia gástrica foram divididos em Subgrupo Sem-quimioterapia e Subgrupo Quimioterapia, foi feita a análise descritiva e comparativa dos resultados obtidos, utilizando o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Os dados são apresentados como média e intervalo de confiança 95%. Para todas as comparações, foi considerada diferença estatística quando $p \leq 0,05$.

V. RESULTADOS

Os pacientes do Grupo Câncer não faziam uso de suplemento nutricional oral ou de terapia nutricional enteral. A análise da ingestão alimentar habitual mostrou que os pacientes com neoplasia gástrica apresentaram menor consumo de proteína, vitamina B₁₂, ferro e zinco em relação ao Grupo Controle. Pacientes do Subgrupo Sem-quimioterapia apresentaram menor consumo de energia, proteína, ácido fólico, ferro, zinco e cobre em relação ao Subgrupo Quimioterapia. A ingestão das vitaminas C e E foi semelhante entre os grupos e subgrupos de estudo (**Tabela 3**).

A perda de peso superior a 5% e 10% em relação ao peso nos seis meses precedentes ocorreu em 52% e 32% dos indivíduos com neoplasia gástrica, respectivamente. Não houve diferença ($p=0,50$) na perda de peso entre os Subgrupos Sem-quimioterapia [12,0% (IC95% 6,0-17,9)] e Quimioterapia [9,4% (IC95% 3,4-15,5)]. O IMC e a massa corporal gorda foram semelhantes entre os grupos e subgrupos do estudo (**Tabela 3**). O IMC menor que 18,5 kg/m² foi documentado em 8% dos pacientes do Grupo Câncer. O Grupo Controle apresentou maiores valores de massa corporal magra e do índice de massa livre de gordura em comparação ao Grupo Câncer, mas não diferiu entre os subgrupos Sem-quimioterapia e Quimioterapia. O ângulo de fase foi menor em pacientes com câncer gástrico do que em indivíduos controle [6,7 (IC95% 5,4-8,0) vs 7,1 (IC95% 6,7-7,6), $p = 0,02$], mas não houve diferença estatística ($p=0,90$) entre o Subgrupo Sem-quimioterapia [6,7 (IC95% 4,8-8,6)] e Quimioterapia [6,6 (IC95% 4,6-8,7)].

Em comparação ao Grupo Controle, o Grupo Câncer apresentou menores níveis sanguíneos de hemoglobina, linfócitos, proteína total, albumina, transferrina, ferro, zinco e vitamina A e E, além de maiores valores de PCR (**Tabela 4**). Os valores de glicemia, leucócitos, ureia, creatinina, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, ferritina, ácido fólico, vitaminas B₁₂ e C, colesterol total e triglicerídeos foram semelhantes entre os grupos de estudo. O Subgrupo Sem-quimioterapia apresentou menores valores de VCM e gama-glutamil transferase do que o Subgrupo Quimioterapia (**Tabela 4**). Por outro lado, os valores de cobre foram maiores no Subgrupo Sem-quimioterapia quando comparados com o Subgrupo Quimioterapia.

O Grupo Câncer apresentou maiores concentrações séricas de TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-10, TNFR1A e TNFR1B do que o Grupo Controle (**Tabela 5**). A concentração sérica de IL-1 β foi maior no Subgrupo Quimioterapia (**Figura 1**) quando comparado com o Subgrupo

Sem-quimioterapia. Os valores de INF- γ e IL-1R foram semelhantes entre grupos e subgrupos.

Tabela 3. Média geométrica e intervalo de confiança 95% (IC95%) da ingestão alimentar e da composição corporal de pacientes dos grupos Controle e Câncer e subgrupos do Grupo Câncer, de acordo com a presença ou não de quimioterapia no período pré-operatório

	Grupo Controle (n=15)	Grupo Câncer			Valor de p	
		Total (n=25)	Subgrupo Sem-quimioterapia (n=15)	Subgrupo Quimioterapia (n=10)	Entre grupos	Entre subgrupos
Ingestão alimentar						
Energia (kcal)	1691 (1380–2003)	1528 (1181-1875)	1210 (945–1475)	2003 (1251–2756)	0,20	0,04
Proteína (g/kg)	1,4 (1,2-1,6)	1,0 (1,8-1,2)	0,8 (0,6-1,0)	1,3 (0,8-1,8)	<0,01	0,03
Vitamina B ₁₂ (µg)	6,4 (5,0–7,8)	2,9 (1,5-4,2)	2,6 (0,8–4,3)	3,3 (0,7–5,9)	<0,01	0,91
Vitamina C (mg)	92 (24–159)	139 (79-198)	117 (49–185)	171 (47–296)	0,17	0,40
Vitamina E (mg)	9,8 (3,0–16,5)	8,4 (5,2-11,5)	6,7 (4,5–8,8)	10,9 (3,0–18,8)	0,89	0,58
Ácido fólico (µg)	162 (122–202)	183 (118-248)	125 (74–176)	271 (130–412)	0,73	0,03
Ferro (mg)	15,8 (13,1–18,5)	11,0 (8,3-13,6)	7,6 (6,1–9,2)	16,0 (10,8–21,2)	<0,01	<0,01
Zinco (mg)	17,8 (14,3–21,2)	8,5 (6,3-10,8)	6,2 (4,6–7,8)	12,0 (7,3–16,8)	<0,01	0,01
Cobre (mg)	1,3 (1,1–1,5)	1,2 (0,9-1,4)	0,9 (0,6–1,2)	1,5 (1,1–1,9)	0,18	0,02
Composição corporal						
IMC (kg/m ²)	26,1 (24,3–27,9)	23,9 (21,9-25,9)	23,3 (21,2–25,5)	24,7 (20,3–29,1)	0,07	0,58
Massa magra (kg)	53,7 (47,2–60,2)	44,3 (40,2-48,5)	45,0 (38,5–51,5)	43,5 (37,5-49,6)	0,02	0,95
Massa gorda (kg)	20,8 (18,1-23,6)	18,9 (15,8-22,1)	18,0 (13,8–22,3)	20,1 (14,5–25,7)	0,29	0,66
IMLG (kg/m ²)	18,7 (17,3-20,1)	16,4 (15,1-17,2)	16,1 (14,4-17,2)	16,9 (14,4-19,3)	0,03	0,49
IMLG baixo (%)	13,3	47,8	53,8	40	0,03	0,51

IMC: Índice de massa corporal; IMLG: Índice de massa livre de gordura

Tabela 4. Média geométrica e intervalo de confiança 95% (IC95%) dos dados laboratoriais de pacientes dos grupos Controle e Câncer e subgrupos do Grupo Câncer, de acordo com presença ou não de quimioterapia no período pré-operatório.

	Grupo Controle (n=15)	Grupo Câncer			Valor de p	
		Total (n=25)	Subgrupo Sem-quimioterapia (n=15)	Subgrupo Quimioterapia (n=10)	Entre grupos	Entre subgrupos
Glicose (mg/dL)	99 (82–115)	113 (98-129)	121 (101–142)	102 (77–127)	0,14	0,11
Hemoglobina (g/dL)	14,5 (13,7–15,2)	12,1 (11,2-13,0)	11,7 (10,3–13,1)	12,7 (11,6–13,8)	<0,01	0,29
VMC (fL)	92 (89–94)	90 (88-94)	84 (80–87)	98 (93–104)	0,30	<0,01
Leucócitos (10 ³ µL)	7,2 (6,3-8,1)	6,8 (6,0-7,6)	7,0 (5,9-8,1)	6,6 (5,1-8,0)	0,45	0,87
Linfócitos (10 ³ µL)	2,2 (1,8–2,5)	1,8 (1,5-2,0)	1,6 (1,4-1,9)	1,9 (1,3–2,5)	0,02	0,37
Uréia (mg/dL)	33,2 (27,4–39,0)	35,8 (29,2-42,4)	34,4 (25,3–43,5)	37,9 (26,6–49,2)	0,59	0,82
Creatinina (mg/dL)	1,0 (0,9–1,1)	1,3 (0,9-1,1)	1,0 (0,8–1,1)	1,1 (1,0–1,2)	0,86	0,82
AST (U/L)	22,1 (18,5–25,6)	28,6 (18,9-38,4)	30,0 (13,2–46,9)	26,7 (18,6–34,8)	0,35	0,52
ALT (U/L)	19,2 (15,5–22,9)	31,3 (10,5-52,1)	39,0 (0,9–77,0)	21,3 (11,9–30,7)	0,66	0,35
Gama GT (U/L)	-	62 (16-108)	30 (18–41)	110 (-12–233)	-	0,02
Proteína total (g/dL)	7,0 (6,8–7,2)	6,4 (6,1-6,6)	6,3 (6,0–6,7)	6,4 (5,9–7,0)	<0,01	0,66
Albumina sérica (g/dL)	4,4 (4,3–4,5)	4,0 (3,8-4,1)	3,9 (3,7–4,1)	4,0 (3,8–4,2)	<0,01	0,64
Transferrina (ng/dL)	241 (212-270)	196 (179-214)	185 (157-213)	212 (196-227)	0,01	0,07
Ferritina (ng/dL)	170 (85–255)	234 (95-372)	240 (15–465)	225 (55–394)	0,95	0,35
Proteína C reativa (mg/dL)	0,2 (0,2–0,3)	0,7 (0,4-1,1)	1,0 (0,5–1,5)	0,4 (0,2–0,7)	0,01	0,08

Continuação Tabela 4.

	Grupo Controle (n=15)	Grupo Câncer			Valor de p	
		Total (n=25)	Subgrupo Sem-quimioterapia (n=15)	Subgrupo quimioterapia (n=10)	Entre grupos	Entre subgrupos
Ferro (µg/dL)	106 (82–130)	80 (52-108)	77 (28–126)	84 (62–104)	0,01	0,17
Zinco (µg/dL)	97 (88–106)	86 (79-93)	89 (80–98)	81 (70–92)	0,04	0,22
Cobre (µg/dL)	107 (92–121)	113 (104-123)	122 (111–132)	100 (82-118)	0,53	0,02
Ácido fólico (ng/dL)	9,7 (7,8–11,7)	10,9 (8,3-13,5)	12,1 (8,3-15,8)	9,1 (5,1–13,0)	0,84	0,26
Vitamina B ₁₂ (pg/mL)	366 (263–468)	441 (310-573)	372 (201–543)	526 (295–757)	0,60	0,12
Vitamina A (umol/L)	1,3 (1,0–1,5)	1,0 (0,9-1,2)	0,8 (0,6–1,0)	1,0 (0,6–1,5)	<0,01	0,53
Vitamina C (umol/L)	0,5 (0,3–0,7)	0,4 (0,3-0,5)	0,4 (0,3–0,5)	0,4 (0,2–0,7)	0,33	0,80
Vitamina E (umol/L)	28,2 (21,6–34,9)	24,3 (20,8-27,8)	19,7 (16,1–23,4)	24,8 (15,7–33,9)	0,02	0,23
Colesterol total (mg/dL)	197 (176–218)	179 (154-204)	177 (153–201)	182 (105–260)	0,41	0,35
Triglicérides (mg/dL)	188 (129–246)	129 (99,6-158)	119 (83–155)	152 (83–220)	0,06	0,21

VCM: volume corpuscular médio; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; Gama GT: gama-glutamyl transferase

Tabela 5. Média geométrica e intervalo de confiança de 95% (IC95%) dos níveis séricos de citocinas inflamatórias de pacientes do Grupo Controle e Câncer.

	Grupo Controle (n=15)	Grupo Câncer (n=25)	Valor de p
TNF- α (pg/mL)	15,2 (11,3-19,1)	22,4 (18,2-26,5)	0,01
TNFR1A (pg/mL)	278 (244-308)	374 (317-431)	0,01
TNFR1B(pg/mL)	1616 (1403-1828)	2234 (1858-2610)	0,01
IL-6 (pg/mL)	1,9 (1,4-2,5)	7,5 (3,7-11,2)	<0,01
IL-1 β (pg/mL)	1,0 (0,9-1,2)	2,3 (0,9-3,9)	0,02
IL-1R (pg/mL)	5764 (5011-6517)	5819 (5065-6573)	0,95
INF- γ (pg/mL)	2,8 (0,8-4,8)	4,0 (0,1-7,9)	0,78
IL-10 (pg/mL)	4,4 (2,8-6,1)	14,4 (9,4-19,4)	<0,01

TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; IL-6: interleucina6; IL-1 β : interleucina-1beta; INF- γ : interferon-gama; IL-10: interleucina 10; IL-1R: receptor de interleucina 1; TNFR1A: receptor solúvel de TNFR1A; TNFR1B: receptor solúvel de TNF1B.

Figura 1. Valores individuais, média e intervalo de confiança 95% (IC95%) das citocinas inflamatórias e seus receptores no Grupo Câncer, de acordo com a presença ou não de quimioterapia no período pré-operatório.

QTx: quimioterapia

A expressão em sangue total (**Figura 2**) de RNAm de *INF- γ* , *IL-10*, *PPAR- γ* e do receptor solúvel *TNFR1A* foi maior no Grupo Câncer em relação ao Grupo Controle. A expressão de RNAm de *TNF- α* , *IL-6*, receptor solúvel *TNFR1B* e *IL-1R*, além do ZAG não apresentaram diferença entre estes grupos.

Continuação Figura 2.

Figura 2. Média geométrica e intervalo de confiança de 95% (IC95%) da expressão gênica de citocinas inflamatórias e seus receptores nos grupos Controle e Câncer. QTx: quimioterapia

A expressão do RNAm em sangue total (**Figura 3**) de *TNF- α* , *IL-6*, *INF- γ* , *IL-10*, dos receptores solúveis de *TNFR1A*, *TNFR1B*, *IL-R*, do *PPAR- γ* e *ZAG* não apresentaram diferença entre estes subgrupos que realizaram ou não quimioterapia.

Continuação Figura 3.

Figura 3. Média geométrica e intervalo de confiança de 95% (IC95%) da expressão gênica de citocinas inflamatórias e seus receptores de pacientes dos subgrupos do Grupo Câncer, de acordo com a presença ou não de quimioterapia no período pré-operatório. Qtx: quimioterapia

VI. DISCUSSÃO

6.1. Ingestão alimentar

Os nossos pacientes com câncer gástrico apresentaram ingestão energética similar aos sujeitos controles, dados semelhantes àqueles documentados em pacientes com câncer de pulmão, ovário, mama (Ovesen et al, 1991; Verde, 2007) e câncer cervical uterino (Lisboa, 2006). Nossos dados de ingestão energética e proteica são semelhantes àqueles reportados em pacientes em pré-operatório de neoplasia gástrica (1487 ± 585 kcal/dia; $1,0 \pm 0,5$ g de proteína/kg/dia) antes da suplementação nutricional com dieta imunomoduladora (Dias Rodrigues et al, 2017). A ingestão energética é reduzida quando há fator mecânico que dificulte a ingestão alimentar, como em pacientes com câncer de cabeça e pescoço (Nourissat et al, 2011; Kubrak et al, 2013).

Apesar da ingestão energética semelhante entre os pacientes com câncer e os controles, houve menor ingestão de proteína, vitamina B₁₂, ferro e zinco nos pacientes oncológicos. Tais dados sugerem diferenças qualitativas no padrão de ingestão alimentar, justificando o menor consumo desses nutrientes. Não podemos atribuir as diferenças na ingestão de macronutrientes às possíveis orientações dietéticas devido ao diabetes melito, considerando que a ocorrência desta comorbidade foi semelhante em ambos os grupos. Entretanto, havia a recomendação da equipe cirúrgica para a perda de peso nos sujeitos com sobrepeso durante o pré-operatório de herniorrafia, o que pode justificar a ingestão energética reduzida nos indivíduos controles.

Nós documentamos que os pacientes oncológicos que não foram submetidos à quimioterapia apresentaram menor ingestão de energia, proteína, ácido fólico, ferro, zinco e cobre em relação àqueles que fizeram quimioterapia prévia. A redução na ingestão alimentar pode ser explicada pelo fato que a indicação cirúrgica em cerca de 50% dos pacientes que não fizeram quimioterapia prévia foi por obstrução ou sangramento da lesão tumoral que, por si só, causa redução na ingestão alimentar. Adicionalmente, os pacientes sob quimioterapia recebiam orientação dietética padronizada pelo serviço de Oncologia Clínica, o que incluiu a informação contida em material didático impresso (Ribeiro et al, 2012).

O método utilizado para avaliar a ingestão alimentar habitual baseou-se na análise quantitativa de apenas um inquérito, devido à impossibilidade de uma aplicação seriada, justificada pelo curto período entre a avaliação inicial e o procedimento cirúrgico. Nós não avaliamos o padrão qualitativo da ingestão alimentar e é possível que os pacientes com

neoplasia gástrica apresentem aversão a alimentos específicos (Kirsner, 1948). O método de avaliação da ingestão alimentar pode ser uma limitação do estudo, considerando que uma melhor estimativa da alimentação habitual poderia ser obtida quando os inquéritos são aplicados de forma seriada. A aplicação de um único questionário alimentar pode não estimar a dieta habitual, devido à elevada variabilidade diária (Fisberget al, 2009) e sazonal da ingestão de nutrientes (Margetts & Nelson, 1997). A veracidade das informações obtidas nos questionários alimentares depende da capacidade do entrevistador em estabelecer uma boa comunicação e evitar a indução de respostas (Fisberget al, 2009). Pode haver sub-registro além da dificuldade em recordar e quantificar a ingestão alimentar habitual (Margetts & Nelson, 1997).

6.2. Composição corporal

No presente estudo, a perda de peso e a redução de massa corporal magra foram comuns nos pacientes com câncer gástrico, embora o IMC tenha sido semelhante àquele documentado nos sujeitos controles. Nós não documentamos diferença na composição corporal de pacientes que receberam ou não quimioterapia pré-operatória. As razões mais comuns para a perda de peso são a redução na ingestão de alimentos, o aumento das necessidades nutricionais induzido pelo tumor e o aproveitamento ineficiente dos nutrientes (Barber et al, 2000). Em geral, a perda de peso é a queixa inicial em pacientes com câncer (Fukuda et al, 2015) e tem sido atribuída a mudanças no apetite, mesmo antes do diagnóstico de câncer (Khalid et al, 2007). Em fases não avançadas da doença neoplásica, as alterações nutricionais são influenciadas pelo sítio tumoral (Marian & Roberts, 2010). A maior incidência e gravidade da perda de peso foram documentadas no câncer gástrico e pancreático, onde 85% dos pacientes apresentam caquexia (Huhmann & August, 2008). Em nossa amostra, a porcentagem de pacientes com perda de peso maior que 10% nos seis meses precedentes (32%) foi superior àquela documentada antes da gastrectomia para câncer gástrico em pacientes japoneses (16%) (Fukuda et al, 2015) e chineses (11%) (Liu et al, 2016a). Um estudo brasileiro recente conduzido no pré-operatório de indivíduos em estágios avançados de câncer gástrico mostrou que 16% dos casos apresentaram perda de peso superior à 10% (Dias Rodrigues et al, 2017).

Apesar da perda de peso, apenas 8% dos nossos pacientes apresentaram IMC abaixo de 18,5 kg/m², sendo que a média permaneceu dentro da faixa de normalidade (WHO, 1998). Tais resultados são semelhantes a diversos estudos conduzidos com pacientes pré-cirúrgicos

para neoplasia gástrica, independente da proposta de tratamento curativo (Kuroda et al, 2017; Dias Rodrigues et al, 2017; Sun et al, 2017; Cui et al, 2015; Tegels et al, 2014), paliativo (Dias Rodrigues et al, 2017; Tegels et al, 2014) ou da quimioterapia neoadjuvante (Tegels et al, 2014).

Nossos pacientes com câncer gástrico apresentaram menores valores de ângulo de fase em relação aos sujeitos controles, cujos resultados foram semelhantes àqueles documentos em pacientes com sítios tumorais diversos (Toso et al, 2003). Menores valores de ângulo de fase têm sido atribuídos a lesão de membranas celulares e dos tecidos tumorais (Toso et al, 2003) e associado ao pior estado nutricional em pacientes com câncer de cólon avançado (Gupta et al, 2008), ao estágio tumoral (Pérez-Camargo et al, 2017) e com a sobrevida de pacientes oncológicos (Grudmann et al, 2015a). Além disso, o ângulo de fase foi diretamente relacionado à massa muscular (Pérez-Camargo et al, 2017).

Metade dos nossos pacientes com câncer foram considerados subnutridos quando classificados de acordo com o IMLG. Além disso, nós documentamos menor massa magra corporal em relação aos controles e valores similares àqueles documentados no pré-operatório de gastrectomia por tumor de estômago (Fukuda et al, 2016). A redução da massa muscular nos nossos pacientes pode ser atribuída à inatividade física e aumento da proteólise muscular em resposta ao estado inflamatório induzido pelo tumor. O aumento da degradação proteica parece ser devido a um aumento da expressão da via metabólica proteolítica ubiquitina-proteasoma no músculo esquelético (Argilés, 2005). A via ubiquitina-proteasoma é a mediadora da degradação proteica na caquexia (Mitch & Goldberg, 1996), sendo que diversas citocinas inflamatórias, incluindo o TNF- α e IL-1, estimulam a produção do RNAm da ubiquitina.

Nós não documentamos diferenças na massa corporal gorda dos pacientes com neoplasia gástrica em relação aos sujeitos controles e 32% dos pacientes apresentaram perda ponderal superior a 10%. Foi previamente descrito que a massa corporal gorda foi mantida nos pacientes que não apresentaram perda de peso em relação ao habitual (Huang et al, 2005). Na caquexia neoplásica há maior infiltração de macrófagos no tecido adiposo (Mayi et al, 2012), resultando em alterações na produção de adipocinas, ativação da lipólise e redução de massa corporal gorda (Batista Jr et al, 2012; Bing, 2011).

6.3. Dados laboratoriais

No pré-operatório de ressecção tumoral, nossos pacientes com adenocarcinoma gástrico apresentaram níveis mais baixos de linfócitos, albumina, transferrina, proteínas totais; e níveis mais altos de proteína C-reativa, semelhante ao que ocorre em pacientes em câncer gástrico (Dias Rodrigues et al, 2017; Seo et al, 2013), colorretal (Daniele et al, 2017) e esôfago (Jagadesham et al, 2017).

Durante as condições de estresse inflamatório, o aumento na concentração das citocinas IL-6, IL-1, TNF- α e INF- γ induz a síntese hepática de proteínas de fase aguda (Szczepanik et al, 2011; Grivennikov et al, 2010; Tapiero et al, 2003), desviando a síntese de proteínas viscerais como a albumina (Wang et al, 2015). Situações fisiopatológicas como a cirrose, a síndrome nefrótica, o estado catabólico e a hemodiluição, também podem induzir mudanças na concentração sérica de albumina (Numeroso et al, 2008). Além disso, o estresse inflamatório causa aumento na permeabilidade vascular, com efluxo da albumina do compartimento intravascular para o extravascular (Fleck et al, 1985). A concentração sérica de albumina tem sido utilizada como um indicador do estado proteico visceral e da inflamação sistêmica (McMilan et al, 2009; McMilan et al, 2008), da sarcopenia, da perda de massa muscular e da força do músculo esquelético (Tandon et al, 2016). Entretanto, a hipoalbuminemia tem sido criticada como um índice confiável na avaliação bioquímica do estado nutricional de pacientes oncológicos (Lis et al, 2013). Assim como no presente estudo, os valores de transferrina sérica foram menores em pacientes com câncer gástrico quando comparado aos sujeitos controles (Fonseca-Nunes et al, 2015). A transferrina correlaciona-se positivamente com a albumina e negativamente com a PCR, sendo utilizado com um marcador de resposta inflamatória (Matusiewicz et al, 2017).

Em pacientes com câncer, os marcadores da resposta de fase aguda podem ser considerados como indicadores indiretos da atividade de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-1 β e TNF- α) (Deans et al, 2006). Uma vez que a PCR sérica é um marcador sensível mas não específico de inflamação, sua análise pode ser útil na elaboração das hipóteses diagnósticas que incluem as doenças malignas. O aumento dos níveis séricos da PCR no pré-operatório está associado com a progressão da doença e taxa de sobrevivência de pacientes com diversos tipos de neoplasias malignas (Wang & Sun, 2009). Semelhante aos resultados obtidos pelo presente estudo, o nível sérico de PCR foi aumentado em pacientes com câncer gástrico quando comparado aos controles saudáveis (Wang et al, 2015; Kwon et al, 2012; Kim et al, 2009; Ilham et al, 2004). O mecanismo envolvido na relação entre a PCR e estadiamento e

malignidade do tumor ainda não está claro. As células tumorais expressam PCR, o que pode explicar a maior correlação entre PCR em tumores metastáticos do que em tumores não metastáticos (Wang et al, 2015). O aumento nos níveis de PCR tem sido relatado em pacientes com linfocitopenia (Crumley et al, 2006) e com uma menor infiltração peritumoral de linfócitos T (Canna et al, 2005).

Quando os indivíduos foram subdivididos de acordo com a administração ou não de quimioterapia neoadjuvante, nós não observamos diferença nos níveis séricos de albumina, transferrina, proteínas totais e PCR. Durante a quimioterapia neoadjuvante para câncer gástrico, é documentado que os pacientes apresentam anemia, leucopenia, neutropenia e aumento das transaminases hepáticas por efeito das drogas antineoplásicas (Sun et al, 2017). No presente estudo, os valores de VCM e gama GT foram mais elevados nos pacientes submetidos à quimioterapia, por provável efeito das drogas antineoplásicas. No momento da avaliação, os nossos pacientes que receberam quimioterapia já haviam finalizado o esquema proposto do emprego de drogas antineoplásicas e estavam em pré-operatório da ressecção tumoral. O tempo decorrido entre o término da quimioterapia e o momento da avaliação parece ter sido suficiente para a normalização das alterações hematológicas e a melhora da ingestão alimentar. Além disso, não podemos afastar a possibilidade de que eles tenham sido submetidos à transfusões sanguíneas para correção da anemia.

Nossos pacientes com câncer gástrico apresentaram menores níveis séricos de ferro e zinco em relação aos sujeitos controles. Em parte, tais resultados podem ser atribuídos à baixa ingestão alimentar desses minerais em relação aos valores de referência (DRI, 2011). Semelhante aos nossos achados, foi documentada menor concentração sérica de ferro em pacientes em estágio avançado de diversos tipos de neoplasias, atribuída ao sequestro deste mineral pelo aumento da ferritina (Maccio et al, 2015). A redução na concentração de zinco foi também documentada em pacientes com câncercervical uterino (Cunzhi et al, 2003), de intestino (Federico et al, 2001) e em estágio avançados de câncergástrico (Seo et al, 2013). Os pacientes oncológicos que não foram submetidos à quimioterapia apresentaram maiores valores séricos de cobre, semelhante aos resultados encontrados com pacientes em pré-operatório de neoplasia colorretal (Ribeiro et al, 2016). Cerca de 90-95% do total de cobre circulante é ligado à ceruloplasmina (Tapiero et al, 2003), cujas concentrações são elevadas em resposta à inflamação, infecção e várias doenças crônicas (Hordyjewska et al, 2014; Tapiero et al, 2003).

Nossos pacientes com câncer gástrico apresentaram menores níveis séricos de vitamina A em relação aos sujeitos controles, embora a maioria estivesse dentro da faixa de normalidade laboratorial. Baixas concentrações de vitamina A têm sido documentadas em pacientes com tumores de esôfago, estômago, fígado e cólon (Mózsik et al, 2005). Sob condições normais, o retinol armazenado no fígado liga-se à proteína transportadora do retinol (RBP), uma proteína carreadora que interage com a transtirretina e está envolvida no transporte de retinol para os tecidos periféricos (Filteau et al, 2000). Tem sido mostrada redução na concentração de retinol várias horas após o início da infecção, sendo rapidamente seguido por uma elevação na concentração da proteína C reativa (Beard et al, 2006). Nós não podemos excluir a possibilidade da mobilização diminuída de vitamina A das reservas hepáticas durante a resposta inflamatória ao tumor, além da diminuição da síntese hepática da proteína transportadora do retinol durante a resposta inflamatória sistêmica (Stephensen & Gildengorin, 2000).

Nossos pacientes com tumor gástrico apresentaram menor concentração sérica de vitamina E em relação aos sujeitos controles, semelhante ao observado em mulheres com câncer cervical uterino (Palan et al, 2004). Entretanto, a hipovitaminose E não foi observada em nenhum voluntário do estudo. Tais achados são semelhantes ao encontrado em pacientes no pré-operatório de câncer gástrico (Rino et al, 2015). Em comparação com células saudáveis, as células cancerosas apresentam maior estresse oxidativo, em parte atribuído à maior atividade metabólica secundária à disfunção mitocondrial (Barrera, 2012; Brandon et al, 2006). Desta forma, podemos atribuir uma redução da vitamina E nos pacientes oncológicos à sua ação antioxidante que atua removendo os radicais peróxido produzidos durante a peroxidação lipídica na membrana plasmática (Birben et al, 2012). Apesar de não termos encontrado diferença na concentração sérica de vitamina E nos pacientes que foram submetidos ou não à quimioterapia neoadjuvante, alguns estudos sugerem que a quimioterapia pode influenciar os níveis plasmáticos de tocoferol (Potischman et al, 1992; Clemens et al, 1990). Em estudo prévio realizado pelo nosso grupo de pesquisa, nós observamos redução dos níveis séricos de vitamina E durante quimioterapia para câncer colorrectal (Ribeiro, 2013).

6.4. Marcadores inflamatórios

No presente estudo, os pacientes com neoplasia gástrica apresentaram maiores concentrações séricas de TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-10, TNFR1A e TNFR1B quando comparado aos indivíduos saudáveis. A análise da expressão do RNA mostrou que o *INF- γ* , *IL-10*,

TNFR1A e *PPAR-γ* foram mais expressos no sangue total de pacientes com neoplasia gástrica em relação aos sujeitos saudáveis. Na análise posterior entre subgrupos, nós documentamos maior concentração sérica de IL-1β nos pacientes submetidos à quimioterapia em comparação àqueles que não haviam sido submetidos ao tratamento oncológico, sem diferenças na expressão do RNAm entre os subgrupos de estudo.

6.4.1. Fator de necrose tumoral alfa

Em relação às concentrações séricas de TNF-α, nossos dados foram semelhantes àqueles previamente publicados, em que os valores dessa citocina foram maiores no pré-operatório de neoplasia gástrica em relação aos indivíduos controle (Szaflarska et al, 2009; Macri et al, 2008). O comportamento sérico do TNF-α de pacientes com neoplasia gástrica parece não seguir um padrão uniforme quanto ao estadiamento tumoral, considerando que esta citocina foi aumentada nos estádios I e IV (Szaflarska et al, 2009) e III e IV (Forones et al, 2001).

Em estudos experimentais, esta citocina inibe o crescimento tumoral por diferentes efeitos citotóxicos, incluindo o bloqueio da proliferação celular, além de ativar a produção de outras citocinas (Kabir & Daar, 1995). O aumento do TNF-α tem sido atribuído ao seu papel na regulação inflamatória do hospedeiro, em resposta ao crescimento tumoral (Balkwill & Mantovani 2001). Acredita-se que elevadas concentrações séricas de TNF-α correlacionam-se com o maior comprometimento do estado nutricional em pacientes oncológicos (Nakashima et al, 1998). A concentração plasmática de TNF-α de pacientes com caquexia neoplásica gastrointestinal ou por outras etiologias foi seis vezes maior em relação aos sujeitos sem caquexia (Batista Jr. et al, 2013). Entretanto, Szaflarska e colaboradores (2009) sugerem que o TNF-α não tem papel na caquexia do câncer, pelo menos em tipos específicos de câncer como o gástrico. Ao contrário dos nossos achados, os níveis séricos de TNF-α foram menores (Shishamura et al, 2000; Kabir & Daar, 1995) ou iguais (Sanchez-Zauco et al, 2017) nos pacientes com câncer gástrico em relação aos indivíduos controle.

No presente estudo, ao contrário do encontrado em nível sérico, a expressão do RNAm de TNF-α foi semelhante entre os pacientes com neoplasia gástrica e os indivíduos controle. Os dados na literatura sobre a expressão de RNAm em diferentes tecidos são contraditórios. Existem autores que afirmam que o TNF-α é produzido principalmente por células mononucleares de sangue periférico, mas não localmente no tumor primário ou nos gânglios linfáticos regionais de pacientes com câncer gástrico (Ohno et al, 1994). Em

contrapartida, comparados com tecidos obtidos de indivíduos normais, houve maior expressão do RNAm de *TNF- α* em tecido de tumor gástrico (Augusto et al, 2007), gastroesofágico (Deans et al, 2006) e em adipócitos da área peritumoral de pacientes com câncer colorretal (Amor et al, 2016).

O aumento da expressão do RNAm de *TNF- α* em pacientes com neoplasia gástrica foi associado à presença do vírus *H. pilory* (Zabaglia et al, 2017; Hosseinzadeh et al, 2016). É possível que os resultados distintos da expressão gênica em pacientes com neoplasia gástrica sejam decorrentes da associação da infecção pelo *H. pilory*. Estudos recentes mostraram que a expressão do RNAm de *TNF- α* do tecido tumoral gástrico foi baixa (Kim et al, 2017) e menor que aquela observada em tecidos de indivíduos controle (Zabaglia et al, 2017). Por outro lado, a expressão do RNAm de *TNF- α* em tecido adiposo de pacientes com caquexia neoplásica gastrointestinal ou por outras etiologias foi 70 vezes maior em relação aos sujeitos sem caquexia (Batista Jr. et al, 2013).

Em nosso estudo, não identificamos diferença na expressão do RNAm de *TNF- α* no sangue total dos pacientes neoplasia gástrica que foram ou não submetidos à quimioterapia neoadjuvante. Em apenas 25% dos pacientes com neoplasia gástrica houve elevação da expressão do RNAm de *TNF- α* em células mononucleares do sangue periférico após a quimioterapia com FOLFOX em relação aos valores obtidos antes da quimioterapia (Liu et al, 2008). Não houve diferença na expressão de RNAm de *TNF- α* em tecido neoplásico gástrico antes e após 3 semanas do emprego do quimioterápico cisplatina (Hosseinzadeh et al, 2016), assim como entre indivíduos que receberam ou não quimioterapia neoadjuvante para câncer gastroesofágico (Deans et al, 2006). O emprego das drogas 5-fluoracil e cisplatina associadas à radioterapia resultou em maior expressão de RNAm de *TNF- α* no sangue total de pacientes com tumor de esôfago (Bowen et al, 2015).

6.4.2 Receptor solúvel do fator de necrose tumoral tipo A e B

Nossos pacientes oncológicos apresentaram maiores níveis séricos do receptor solúvel do fator de necrose tumoral tipo A e B (TNFR1A e TNFR1B) em relação ao Grupo Controle. Nossos dados foram semelhantes àqueles documentados em pacientes em pré-operatório de neoplasia gástrica (Szaflarska et al, 2009) e em indivíduos com câncer colorectal avançado (Iwagaki et al, 1999). Em pacientes com neoplasia gastrointestinal, os níveis séricos de TNFR1A foram maiores em relação aos indivíduos controle e diretamente proporcionais ao estadio da doença (Shibata et al, 2008). Além disso, houve correlação negativa entre os

parâmetros do estado nutricional, como pré-albumina e transferrina, com os níveis de TNFR1A em pacientes com neoplasia gastrointestinal (Shibata et al, 2008). Por outro lado, os pacientes com câncer gastroesofágico apresentaram níveis séricos de receptores solúveis TNFR semelhantes aos de indivíduos controle (Deans et al, 2006). Em pacientes com neoplasia gastrointestinal, a exposição do sistema imune ao tumor ou a outros antígenos resultou em um aumento de TNF- α e seus receptores TNFR1A e TNFR1B, com flutuações de acordo com o ciclo circadiano (Zubelewicz-Szkodzinska et al, 2001). Os níveis de receptores solúveis do TNF- α destes pacientes aumentaram significativamente em resposta aos mesmos estímulos que induzem a produção de TNF- α , sendo produzidos por células do sistema imunológico que se infiltram no tecido tumoral e pela própria célula cancerosa (Touitou & Haus, 1994). No entanto, as células tumorais apresentam tendência à maior produção desses receptores que as células não malignas, com o possível intuito de liberar formas solúveis de suas proteínas de superfície celular (Burger et al, 1994).

Tem sido documentada a relação de altos valores de TNFR1A e TNFR1B com o tamanho tumoral o número de linfonodos acometidos, uma vez que estes receptores solúveis estão mais elevados nos estádios mais avançados da doença (Szaflarska et al, 2009). No entanto, Szaflarska e colaboradores (2009) não encontraram relação destes receptores com o prognóstico e também não apresentaram correlação com os níveis de TNF- α . O significado desses achados não é claro, pois o TNF- α é biologicamente ativo quando ligado aos seus receptores solúveis (Granell et al, 2004).

No presente estudo, a expressão do RNAm em sangue total dos genes dos receptores TNFR1A e TNFR1B foram maiores nos pacientes oncológicos em relação aos voluntários controles. Estudo recente não documentou diferença na expressão do RNAm dos genes receptores TNFR1A e TNFR1B entre o tecido neoplásico gástrico e a mucosa não tumoral (Kim et al, 2017). Em amostras de carcinoma hepatocelular houve redução na expressão de RNAm de *TNFR1A* e *TNFR1B* comparado com tecido hepático morfológicamente normal distante do tumor (Zekri et al, 2008).

Tem sido sugerido que os receptores solúveis de citocinas inflamatórias desempenham um fator importante na produção secundária de citocinas (Shishamura et al, 2000). Por exemplo, os receptores solúveis de TNF- α competem com receptores de membrana celular para TNF- α livre e, portanto, são antagonistas fisiológicos e reguladores da biodisponibilidade de TNF- α (Spinass et al, 1992; Engelmann et al, 1989). Alguns autores acreditam que o INF- γ aumenta a expressão gênica dos receptores solúveis TNFR1A e TNFR1B (Lee et al, 1984;

Stone-Wolff et al, 1984;Williamson et al, 1983), porém, estudos *in vitro* com células gástricas não mostraram efeito do IFN- γ no aumento do RNAm de receptores solúveis de *TNF- α* , embora tenha sido documentado maior liberação dos receptores solúveis de *TNF- α* (Furuta et al, 2002). Assim, sugere-se que o IFN- γ induz a liberação de receptores solúveis de *TNFR- α* e inibe o efeito citotóxico celular de *TNF- α* (Furuta et al, 2002). Por terem uma maior estabilidade e meia vida, os receptores solúveis de *TNF- α* têm sido utilizados como marcadores séricos da atividade do *TNF- α* (Hosono et al, 2012).

6.4.3. Interleucina 6

Em nosso estudo, os níveis de IL-6 sérico foram maiores nos pacientes com neoplasia em relação aos controles, semelhante ao observado em pacientes em pré-operatório de neoplasia gástrica (Sanchez-Zauco et al, 2017; Ikeguchi et al, 2009; Ilham et al, 2004; Wu et al, 1996; Kabir & Daan et al, 1995). O aumento de IL-6 pode ser explicado pela produção desta citocina pelo tumor e pelas células estromais, que por sua vez estimula a produção de IL-6 em várias outras células (Balkwill & Mantovani 2001; Salgado et al, 1999). Diferente dos nossos achados, os níveis séricos de IL-6 foram semelhantes em pacientes com câncer gástrico (Shishamura et al, 2000) e gastroesofágico (Deans et al, 2006) quando comparados com sujeitos controle. No câncer gástrico, altas concentrações séricas de IL-6 foram associadas com pior estágio tumoral (Kwon et al, 2012; Kim et al, 2009) e indicam a intensidade de lesão de infiltração ulcerativa da parede gástrica (Ikeguchi et al, 2009). Além disso, a concentração sérica de IL-6 reduz após a ressecção tumoral (Wu et al, 1996) e aumenta na recorrência da doença (Kim et al, 2009; Wu et al, 1996).

Durante as condições de estresse e trauma, a IL-6 estimula a síntese de proteína de fase aguda pelo fígado (Tapiero et al, 2003), justificando várias alterações laboratoriais observadas nos pacientes com neoplasia gástrica. Em pacientes com câncer avançado, o aumento das concentrações circulantes de IL-6 foi relacionado negativamente com perturbações das funções físicas e cognitivas (Ishikawa et al, 2012), associado com a incapacidade funcional da vida diária (Costanzo et al, 2005), com o estágio tumoral e presença de metástases (Lukaszewics-Zajac et al, 2010).

Em nossa pesquisa, as análises da expressão do RNAm de *IL-6* dosadas no sangue periférico dos pacientes com neoplasia gástrica foram maiores em relação aos controles, embora sem aumento significativo ($p=0,09$). A expressão do RNAm em células mononucleares do sangue periférico de *IL-6* foi maior em pacientes com neoplasia gástrica

quando comparada aos controles saudáveis, sendo que esta expressão foi maior nos estádios III e IV em relação com os estádios I e II (Liang et al, 2011). Stanilov e colaboradores (2016) não encontraram diferenças na expressão do RNAm de *IL-6* em células mononucleares de sangue periférico de pacientes com câncer colorretal e indivíduos saudáveis. Comparado com tecidos obtidos de indivíduos normais, houve maior expressão do RNAm de *IL-6* em tecido de neoplasia gastroesofágica (Deans et al, 2006). No presente estudo, a expressão em sangue total do RNAm de *IL-6* foi semelhante entre indivíduos com ou sem quimioterapia neoadjuvante. Em tecido tumoral, a expressão do RNAm de *IL-6* foi também semelhante entre indivíduos que receberam ou não quimioterapia neoadjuvante para câncer gastroesofágico (Deans et al, 2006). Os dados obtidos no presente estudo indicam que os níveis sanguíneos aumentados *IL-6* observados nos pacientes com neoplasia gástrica são decorrentes da maior produção destas interleucinas pelas células tumorais ou outros tecidos, com participação modesta das células sanguíneas periféricas.

6.4.4. Interleucina 1 beta

Nossos pacientes com câncer gástrico apresentaram maiores níveis séricos de *IL-1 β* quando comparados aos indivíduos controle, similar aos dados da literatura (Sanchez-Zauco et al 2017; Su et al, 2014; Kabir & Daar, 1995). Quando foi feita a comparação de acordo com a quimioterapia prévia, os pacientes que receberam as drogas anti-neoplásicas apresentaram maiores valores séricos de *IL-1 β* . Estudos recentes sugerem que a resposta inflamatória sistêmica causada pelos quimioterápicos está relacionada à sua capacidade de desencadear a síntese, o processamento e a liberação de *IL-1 β* (Wong et al, 2013; Sauter et al, 2011).

Altos níveis séricos de *IL-1 β* têm sido correlacionados com o estadió mais avançado do câncer gástrico (Sanchez-Zauco et al, 2017). Ao contrário dos nossos achados, os pacientes com neoplasia gástrica apresentaram menores (Macri et al, 2008) ou iguais (Shishamura et al, 2000) níveis séricos de *IL-1 β* em relação aos indivíduos controle. Uma vez que a *IL-1* é produzida por uma série de células incluindo as células tumorais, é possível que essa citocina possa atuar como um fator paracrino e ativador de outras células, como monócitos circulantes, macrófagos teciduais, células endoteliais, fibroblastos e linfócitos T e B, a fim de secretar *IL-1 β* (Kabir & Daar, 1995).

No presente estudo, nós não quantificamos a expressão do RNAm de *IL-1 β* em sangue total. A expressão de RNAm de *IL-1 β* em células mononucleares de sangue periférico em pacientes com com câncer gástrico *in situ* e metastático é 8 e 6 vezes maior,

respectivamente, quando comparado com indivíduos controle (Su et al, 2014). Em tecido neoplásico gástrico, em sido documentado uma alta expressão de RNAm de *IL-1 β* (Kim et al, 2017; Su et al, 2014, Augusto et al, 2007) e uma expressão gênica semelhante entre indivíduos que receberam ou não quimioterapia neoadjuvante para câncer gastroesofágico (Deans et al, 2006).

6.4.5. Receptor solúvel de interleucina 1

No nosso estudo, a expressão de RNAm de *IL-1R* em sangue total foi semelhante entre pacientes com câncer gástrico, com ou sem quimioterapia neoadjuvante e indivíduos controle. Foi previamente documentado que os níveis séricos de IL-1R foram maiores nos indivíduos saudáveis em relação aos indivíduos com câncer gástrico (Shishamura et al, 2000). Os resultados obtidos de níveis circulantes do receptor IL-1R em pacientes com câncer gástrico foram divergentes de acordo com o material de estudo analisado. Os níveis de IL-1R foram menores quando avaliados no sangue total e maiores quando avaliados em células mononucleares do sangue periférico (Shishamura et al, 2008).

6.4.6. Interferon gama

Nós não encontramos diferença estatística nos valores séricos de INF- γ entre os pacientes com câncer gástrico e controles, embora a expressão do RNAm deste gene em sangue total tenha sido maior nos pacientes oncológicos. Os valores séricos de INF- γ de nosso estudo vão de encontro com os dados obtidos em estudo prévio com neoplasia gástrica (Ishikawa et al, 2009; Su et al, 2014) e gastrointestinal (Matos-Neto et al, 2015), mas diferem de estudos que mostram que a concentração sérica de INF- γ foi maior (Sanchez-Zauco et al, 2017) ou menor (Shishamura et al, 2000) nos pacientes com câncer gástrico em relação aos indivíduos saudáveis. Sabe-se que a IL-6 induz a produção de IL-10 por células T (Blanchard et al, 2000), que possui fortes efeitos imunossupressores através da inibição de citocinas de tipo Th1, incluindo INF- γ (Fiorentino et al, 1989). Levantamos a hipótese que a maior produção de IL-10 tenha exercido imunossupressão de INF- γ (Fiorentino et al, 1989).

Diferente dos nossos achados, a expressão do RNAm do *INF- γ* nas células mononucleares do sangue periférico foi menor (Liang et al, 2011; Yang et al, 2010) ou igual (Su et al, 2014) de pacientes com tumor gástrico quando comparado com indivíduos controle (Liang et al, 2011). Em nosso estudo, não houve diferença na expressão do RNAm do *INF- γ* em função da quimioterapia prévia, o que esteve em desacordo com a maior expressão gênica

após a quimioterapia para câncer gástrico (Liu et al, 2008). No presente estudo, o INF- γ foi a única citocina em que houve maior expressão gênica no sangue periférico dos pacientes com neoplasia gástrica, porém sem concordância com os valores séricos encontrados. Este resultado pode ser justificado por mecanismos que interferem na regulação da expressão deste gene. A não correspondência entre a expressão gênica aumentada e os níveis séricos de INF- γ pode ser explicada pela ação de micro RNAs (miR). Foi demonstrado que o miR-155 funciona como um regulador da produção de IFN- γ em células *natural killers* humanas, pelo menos em parte, através da modulação da expressão de SHIP1, um gene membro da inositol polifosfato-5-fosfatase (Trotta et al, 2012). Outra possibilidade poderia ser por interferências na tradução da proteína codificada pelo INF- γ . Ben Asouli e colaboradores (2002) e Kaempfer (2006) observaram que há um controle pós-transcricional do RNAm do INF- γ , que pode formar estruturas secundárias chamadas *pseudoknots*. Estas estruturas ativam a proteína quinase R (PKR), que por sua vez fosforila o fator de iniciação da tradução eucariótica 2- α quinase (EIF2AK2), levando uma inibição da tradução do RNAm do INF- γ . Um segundo mecanismo envolve o sequestro da proteína INF- γ durante o estresse celular (Vandenbroeck et al, 2006).

6.4.7. Interleucina-10

Em relação aos sujeitos controle, nossos pacientes com neoplasia gástrica apresentaram maiores concentrações séricas de IL-10, dados estes semelhantes aos encontrados em pacientes com adenocarcinoma gástrico (Sanchez-Zauco et al, 2017; Hu et al, 2013; Szaflarska et al, 2009) e gastrointestinal (De Vita et al, 1999). Resultados semelhantes aos observados no presente estudo foram relatados em pacientes com diferentes tipos histológicos de tumores sólidos e hematopoiéticos (Avradopoulos et al, 1997; Wojciechowska et al, 1996; Fortis et al, 1996; Blay et al, 1993). Diferente de nossos achados, Batista Jr e colaboradores (2013) não encontraram alteração nas concentrações plasmáticas de IL-10 em pacientes com câncer gastrointestinal.

O aumento da IL-10 em pacientes com câncer pode ser atribuído à retroalimentação positiva em resposta à maior concentração das citocinas pró-inflamatórias (Ebrahimi et al, 2004). As propriedades anti-inflamatórias da IL-10 suprimem a resposta imune do hospedeiro (Ikeguchi et al, 2009), sugerindo que a produção excessiva de IL-10 pelas células tumorais ou outras células (Szaflarska et al, 2009) pode ser uma estratégia de sobrevivência em vários tipos de tumores (De Vita, 1999). Embora os dados sejam questionados (Ikeguchi et al, 2009), aumentos excessivos nos níveis séricos de IL-10 têm sido relacionados aos estádios avançados da doença (Liang et al, 2011; Szaflarska et al, 2009; De Vita et al, 1999,) ao pior

prognóstico (Ebrahimi et al, 2004; Ikeguchi et al, 2009) e a presença de caquexia (Sun et al, 2010).

Nós não documentamos diferença nos níveis séricos de IL-10 entre pacientes submetidos ou não à quimioterapia prévia, cujos dados foram concordantes com aqueles observados por Wang e colaboradores (2013). Em estádios avançados de câncer gastrointestinal, não houve modificação na concentração sérica de IL-10 em relação aos valores prévios à quimioterapia nos pacientes responsíveis ao 5-fluoracil, enquanto que esta citocina aumentou nos sujeitos que não responderam ao tratamento oncológico (De Vita et al, 1999).

Os nossos pacientes com câncer gástrico apresentaram maior a expressão de RNAm de *IL-10* em sangue total em relação aos indivíduos controle, corroborando para os dados séricos desta citocina. Semelhante aos nossos achados, a expressão de RNAm de *IL-10* no sangue periférico foi maior em pacientes no pré-operatório de câncer colorretal em comparação aos voluntários saudáveis (Stanilov et al, 2016). A IL-10 foi mais expressa em células mononucleares de sangue periférico em estágios finais de neoplasia gástrica quando comparada com os estágios iniciais (Liang et al, 2011). No tecido tumoral gástrico, a expressão do RNAm de *IL-10* é maior do que em tecido de indivíduos controle (Augusto et al, 2007).

Diferente dos nossos achados em que não documentamos diferença na expressão gênica entre pacientes submetidos ou não à quimioterapia, a expressão do RNAm da *IL-10* após uso do esquema FOLFOX para câncer gástrico foi menor quando comparado antes da quimioterapia (Liu et al, 2008). A expressão do RNAm de *IL-10* em tecido tumoral gástrico foi encontrada em 48% das amostras estudadas (Sakamoto et al, 2006). A expressão gênica da IL-10 foi inversamente correlacionada com a infiltração de linfócitos T CD8 em tecido de tumor gástrico (Sakamoto et al, 2006). Assim como observado com os níveis séricos de IL-10, a expressão do RNAm desta citocina em tecido de tumor gástrico foi correlacionada com a invasão tumoral e a presença de células neoplásicas em linfonodos (Sakamoto et al, 2006).

6.4.8. Receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama

No presente estudo, a expressão de RNAm do *PPAR-γ* foi maior nos pacientes com neoplasia gástrica quando comparado aos controles saudáveis. Nós não encontramos diferença na expressão deste gene entre indivíduos com ou sem quimioterapia. A expressão de RNAm do *PPAR-γ* em tecido tumoral gástrico foi maior em relação ao tecido não tumoral (Ma et al, 2009). Houve associação negativa entre a expressão de RNAm do *PPAR-γ* em tecido gástrico

neoplásico com o grau de invasão do tumor, a invasão de vasos, a presença de metástase em linfonodos e à distância (Ma et al, 2009). Em estudo *in vitro* e *in vivo* demonstrou que a expressão do RNAm do *PPAR-γ* no tecido tumoral gástrico está associado com doença maligna em estágio menos avançado e com uma melhor sobrevida, sugerindo o uso do *PPAR-γ* como marcador de menor agressividade do carcinoma gástrico (Cho et al, 2015). Na literatura, a expressão de RNAm do *PPAR-γ* em tecido tumoral gástrico foi semelhante quando avaliado antes e após quimioterapia com cisplatina (Hosseinzadeh et al, 2016).

6.4.9. Zinco-alfa2-glicoproteína

No presente estudo, a expressão de RNAm da ZAG em sangue total foi semelhante entre todos os grupos de estudo, independente de apresentarem ou não neoplasia gástrica. Foram observados níveis elevados de ZAG sérico em pacientes com insuficiência cardíaca crônica e pacientes com hemodiálise, sugerindo que a ZAG seja um marcador de catabolismo lipídico (Cabassi & Tedeschi, 2013). Em contraste, os níveis séricos de ZAG podem não ser um bom biomarcador de perda de peso e de gordura corporal (Ebadi & Mazurak, 2015), uma vez que os níveis séricos de ZAG foram semelhantes entre os sujeitos caquéticos e não caquéticos com câncer gastrointestinal (Mracek et al, 2011), não correlacionando com a perda de peso e o IMC (Mracek et al, 2011). Embora os níveis urinários de ZAG tenham sido maiores nos pacientes com câncer gastroesofágico em relação aos sujeitos controle, não houve diferença entre os indivíduos com câncer que apresentavam caquexia quando comparados com aqueles sem caquexia (Skipworth et al, 2010). Não foi identificado ZAG na circulação de pacientes com câncer gástrico (Rýden et al, 2012), o que pode ser justificado pelo fato de que a ZAG ser produzida no tecido adiposo, com baixa secreção na circulação sanguínea (Rýden et al, 2012). Em estudo experimental, os ratos com tumor gástrico apresentaram maior valor sérico da ZAG em relação aos animais controles (Us Altay et al, 2016). Em condições normais, a ZAG circulante tem sido detectada em vários fluidos corporais, dentre elas o plasma sanguíneo (Okubo et al, 1988; Burgi & Schmid, 1961; Poortmans & Schmid, 1968), provindo dos hepatócitos (Tada et al, 1991).

A expressão do RNAm de ZAG em tecido adiposo de pacientes com câncer gastrointestinal mostrou ser maior nos pacientes caquéticos do que naqueles com aqueles com manutenção do peso corporal (Mracek et al, 2011). A expressão do RNAm de ZAG em tecido tumoral têm se mostrado diferenciado de acordo com o tipo de tumor. Acredita-se que o mecanismo envolvido seja parcialmente atribuído pelo estado de acetilação das histonas na qual regulam a atividade do gene pela mudança da conformação da cromatina (Huang et al, 2012).

Observa-se alta expressão desse gene em tecidos de tumores de pulmão (Albertus et al, 2008), próstata (Henshall et al, 2006) e mama (Díez-Itza et al, 1993). Por outro lado, uma menor expressão de RNAm de ZAG foi documentada em tecidos de tumor pancreático (Kong et al, 2010). Estudo experimental não mostrou diferença na expressão gênica da ZAG entre tecido tumoral de ratos com ou sem tumor gástrico (Us Altay et al, 2016).

6.5. Forças e limitações do estudo

Uma limitação do presente estudo se refere ao pequeno tamanho amostral, especialmente se comparado com estudos japoneses ou multicêntricos (Kim et al, 2017; Su et al, 2014; Liang et al, 2011). Entretanto, o número de casos avaliados foi igual ou superior (Augusto et al, 2007; Zabaglia et al, 2017) a outros estudos que analisaram a expressão do RNAm de citocinas inflamatórias. Na literatura, muitos estudos incluem pacientes com tumores variados do trato digestório (Matos-Neto et al, 2015; Shibata et al, 2008; Deans et al, 2006). Em nosso estudo, todos os pacientes apresentavam adeocarcinoma gástrico, minimizando a possibilidade de viés relacionado ao sítio tumoral e ao tipo histológico da neoplasia. Entretanto, estudos recentes apontaram que diferentes subtipos de câncer gástrico (de acordo com a classificação Lauren de difusa ou intestinal) têm peculiaridades na liberação de algumas citocinas (Sanches-Zauco et al, 2017). Além disso, a heterogenicidade nos estadiamentos tumorais pode ser uma limitação do nosso estudo.

Um aspecto que valoriza nosso estudo foi a inclusão da obtenção e análise da ingestão alimentar, dados da composição corporal e exames laboratoriais. Tais dados permitiram uma visão global das condições clínicas e nutricionais dos voluntários do estudo. Além disso, uma peculiaridade do nosso estudo foi a subdivisão dos pacientes com neoplasia gástrica que haviam sido submetidos ou não à quimioterapia neoadjuvante. Segundo nosso conhecimento atual, este aspecto tem sido pouco explorado nos pacientes em pré-operatório de neoplasia gástrica. Essa divisão em subgrupos nos permitiu avaliar o efeito do tratamento com drogas antineoplásicas específicas no comportamento das citocinas séricas e na sua expressão gênica.

VII. CONCLUSÕES

- A neoplasia gástrica provoca efeitos sistêmicos caracterizados pela resposta à inflamação sistêmica. Tal estresse inflamatório pode ter influenciado em um maior comprometimento do estado nutricional nos indivíduos em pré-operatório da ressecção tumoral gástrica, com redução do peso corporal, redução da massa muscular, além de alterações laboratoriais.
- Apesar dos pacientes que haviam sido submetidos à quimioterapia apresentarem melhor ingestão alimentar em relação àqueles que não tinham recebido drogas antineoplásicas, não foi evidenciado diferença na composição corporal entre esses pacientes oncológicos.
- Os valores séricos dos genes do receptor solúvel de TNF- α , TNFR1A e TNFR1B, acompanharam os achados de maior expressão destes no sangue periférico de pacientes com câncer gástrico em relação aos controles sem neoplasia. É possível que o aumento da expressão destes receptores solúveis esteja associado à progressão do tumor gástrico, ao pior estado nutricional e pela influência dos altos níveis de TNF- α circulante.
- O aumento da concentração sérica de TNF- α e IL-6 nos pacientes com neoplasia gástrica não foi acompanhado pela maior expressão gênica dessas citocinas por células do sangue periférico, sugerindo produção aumentada em tecido tumoral ou outros tecidos.
- Embora a concentração sérica de INF- γ nos pacientes com neoplasia gástrica tenha sido semelhante àquela obtida nos sujeitos controles, a expressão desta citocina em sangue periférico foi aumentada nos indivíduos com câncer. É possível que a alta produção de IL-10 tenha exercido efeito imunossupressor no INF- γ , além de mecanismo epigenético como a interferência de miRNAs, a inibição pós-transcricional na tradução do RNAm do *INF- γ* , ou ainda pelo sequestro da proteína INF- γ durante o estresse celular.
- O aumento na concentração sanguínea de IL-10, citocina considerada anti-inflamatória, acompanhou a maior expressão gênica dessa citocina em células do sangue periférico. Tais resultados merecem investigação futura para confirmar a hipótese de que esse aumento pode dever-se à retroalimentação positiva em resposta à maior concentração das citocinas pró-inflamatórias.
- Nossos resultados indicam que o sangue periférico não é um tecido-alvo para expressar a adipocina ZAG, que tem mostrado elevada expressão gênica em tecido adiposo subcutâneo de pacientes com neoplasia.

- O gene do PPAR- γ apresentou-se mais expresso em sangue periférico de pacientes com câncer gástrico em relação aos controles sem neoplasia. É possível que esse aumento seja devido ao papel do PPAR- γ na regulação da inflamação e na resposta imune, pela inibição da expressão de citocinas e no direcionamento da diferenciação de células imunes.
- Os pacientes com câncer gástrico apresentaram maiores níveis séricos de IL-1 β quando comparados aos indivíduos controle, sendo que a quimioterapia foi associada com a liberação aumentada desta citocina.
- O IL-1R, um inibidor fisiologicamente ativo de IL-1, teve sua expressão em sangue total semelhante entre todos os indivíduos avaliados no estudo.
- Analisados em conjunto, os dados obtidos no presente estudo mostram que o sangue periférico pode ser utilizado para obter amostras para análise de citocinas inflamatórias e de sua expressão gênica. Alterações na composição corporal, ingestão alimentar e resposta inflamatória sistêmica foram evidentes em pacientes com câncer gástrico. Além disso, a quimioterapia parece influenciar apenas os maiores níveis séricos de IL-1 β . Estudos futuros com a expressão do RNAm deste gene devem ser realizados.

VIII. REFERÊNCIAS

- Aderka D, Engelmann H, Hornik V, Skonick Y, Levo Y and Wallach D: Increased serum levels of soluble receptors for tumor necrosis factor in cancer patients. *Cancer Res.* 1991;51:5602-7.
- Albertus DL, Seder CW, Chen G, Wang X, Hartojo W, Lin L, Silvers A, Thomas DG, Giordano TJ, Chang AC, Orringer MB, Bigbee WL, Chinnaiyan AM, Beer DG. AZGP1 autoantibody predicts survival and histone deacetylase inhibitors increase expression in lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol.* 2008;3(11):1236-44.
- Albertus DL, Seder CW, Chen G, Wang X, Hartojo W, Lin L, Silvers A, Thomas DG, Giordano TJ, Chang AC, Orringer MB, Bigbee WL, Chinnaiyan AM, Beer DG. AZGP1 autoantibody predicts survival and histone deacetylase inhibitors increase expression in lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol.* 2008;(11):1236-44.
- Alexander HR, Doherty GM, Venzon DJ, et al: Recombinant interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra): effective therapy against gram-negative sepsis in rats. *Surgery.* 1992;112:188-4.
- Al-Tahhan MA, Etewa RL, El Behery MM. Association between circulating interleukin-1 beta (IL-1 β) levels and IL-1 β C-511T polymorphism with cervical cancer risk in Egyptian women. *Mol Cell Biochem.* 2011;353(1-2):159–65.
- Amedei A, Della Bella C, Silvestri E, Prisco D, D'Elis MM. T cells in gastric cancer: friends or foes. *Clin Dev Immunol.* 2012: 690571.
- American Cancer Society. Disponível no site <https://www.cancer.org/cancer/stomach-cancer/detection-diagnosis-staging/signs-symptoms.html>. Visto em 12/12/2017.
- Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin* 2017;67:93-9.
- Amor S, Cruz MCI, Ferrero E, García-Villar O, Barrios V, Fernandez N, Monge L, García-Villalón AL, Granado M. Peritumoral adipose tissue as a source of inflammatory and angiogenic factors in colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2016;31:365-75.
- Anderson ST, Kaforou M, Brent AJ, Wright VJ, Banwell CM, Chagaluka G, Crampin AC, Dockrell HM, French N, Hamilton MS, Hibberd ML, Kern F, Langford PR, Ling L, Mlotha R, Ottenhoff TH, Pienaar S, Pillay V, Scott JA, Twahir H, Wilkinson RJ, Coin LJ, Heyderman RS, Levin M, Eley B; ILULU Consortium; KIDS TB Study Group. Diagnosis of childhood tuberculosis and host RNA expression in Africa. *N Engl J Med.* 2014;370(18):1712-23.
- Aoyama T, Yoshikawa T, Hayashi T, Hasegawa S, Tsuchida K, Yamada T, Cho H, Ogata T, Fujikawa H, Yukawa N, Oshima T, Rino Y, Masuda M. Randomized

comparison of surgical stress and the nutritional status between laparoscopy-assisted and open distal gastrectomy for gastric cancer. *Ann Surg Oncol*. 2014;21(6):1983-90.

Apte RN, Voronov E. Is interleukin-1 a good or bad 'guy' in tumor immunobiology and immunotherapy? *Immunol Rev*. 2008; 222: 222–41.

Argilés JM, Busquets S, López-Soriano FJ. Anti-inflammatory therapies in cancer cachexia. *European Journal of Pharmacology*. 2011;668:81-6.

Argilés JM, Busquets S, López-Soriano FJ. Cytokines in the pathogenesis of cancer cachexia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2003;6(4):401-6.

Argilés JM, Busquets S, Toledo M, López-Soriano FJ. The role of cytokines in cancer cachexia. *Curr Opin Support Palliat Care*. 2009;3(4):263-8.

Argilés JM. Cancer-associated malnutrition. *European Journal of Oncology Nursing*. 2005; 9:39-50.

Arnaud J, Fortis I, Blachier S, Kia D, Favier A. Simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*. 1991;572(1-2):103-16.

Augusto AC, Miguel F, Mendonça S, Pedrazzoli J Jr, Gurgueira SA. Oxidative stress expression status associated to *Helicobacter pylori* virulence in gastric diseases. *Clin Biochem*. 2007;40(9-10):615-22.

Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001;357:539-45.

Balkwill F. TNF-alpha in promotion and progression of cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2006;25:409–16.

Balkwill F. Tumour necrosis factor and cancer, *Nat. Rev. Cancer*. 2009;9:361-1.

Bao Y, Bing C, Hunter L, Jenkins JR, Wabitsch M, Trayhurn P. Zinc-alpha2-glycoprotein, a lipid mobilizing factor, is expressed and secreted by human (SGBS) adipocytes. *FEBS Lett*. 2005;579(1):41-7.

Barber MD, Ross JA, Fearon KC. Disordered metabolic response with cancer and its management. *World J Surg*. 2000;24(6):681-9.

Barbosa HPM, Martins LC, Dos Santos SE, Demachki S, Assumpção MB, Aragão CD, de Oliveira Corvelo TC. Interleukin-1 and TNF-alpha polymorphisms and *Helicobacter pylori* in a Brazilian Amazon population. *World J Gastroenterol*. 2009;15:1465–71.

Batista Jr ML, Peres SB, Mc Donald ME, Alcantara PS, Olivan M, Otoch JP, Farmer SR, Seelaender M. Adipose tissue inflammation and cancer cachexia: possible role of nuclear transcription factors. *Cytokine*. 2012; 57(1):9-16.

Batista ML Jr, Olivan M, Alcantara PS, Sandoval R, Peres SB, Neves RX, Silverio R, Maximiano LF, Otoch JP, Seelaender M. Adipose tissue-derived factors as potential biomarkers in cachectic cancer patients. *Cytokine*. 2013;61(2):532-9.

Bemelmens MH, Gouma DJ and Buurman WA: LPS-induced sTNF receptor release in vivo in a murine model. *J Immunol*. 1993;151:5554-62.

Bing C, Bao Y, Jenkins J, Sanders P, Manieri M, Cinti S, Tisdale MJ, Trayhurn P. Zinc- α 2-glycoprotein, a lipid mobilizing factor, is expressed in adipocytes and is up-regulated in mice with cancer cachexia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:2500-5.

Bing C, Trayhurn P. Regulation of adipose tissue metabolism in cancer cachexia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2008;11(3):201-7.

Biswas SK, Sodhi A. In vitro activation of murine peritoneal macrophages by monocyte chemoattractant protein-1: upregulation of CD11b, production of proinflammatory cytokines, and the signal transduction pathway. *J Interferon Cytokine Res*. 2002;22:527-38.

Blum D, Omlin A, Baracos VE, Solheim TS, Tan BH, Stone P, Kaasa S, Fearon K, Strasser F; European Palliative Care Research Collaborative. Cancer cachexia: a systematic literature review of items and domains associated with involuntary weight loss in cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2011;80(1):114-44.

Bohn SK, Russnes KM, Sakhi AK, Thoresen M, Holden M, Moskaug JØ, Myhrstad MC, Olstad OK, Smeland S, Blomhoff R. Stress associated gene expression in blood cells is related to outcome in radiotherapy treated head and neck cancer patients. *BMC Cancer*. 2012;12:426.

Borsig L, Wolf MJ, Roblek M, Lorentzen A, Heikenwalder M. Inflammatory chemokines and metastasis-tracing the accessory. *J Oncogene*. 2014;33(25):3217-24.

Bowen JM, White I, Smith L, Tsykin A, Kristaly K, Thompson SK, Karapetis CS, Tan H, Game PA, Irvine T, Hussey DJ, Watson DI, Keefe DM. Pre-therapy mRNA expression of TNF is associated with regimen-related gastrointestinal toxicity in patients with esophageal cancer: a pilot study. *Support Care Cancer*. 2015 Nov;23(11):3165-72.

Bradley J. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol*. 2008;214(2):149-60.

Brysk MM, Lei G, Adler-Storhiz K, Chen Z, Brysk H, Tying SK, Arany I. Zinc- α 2-glycoprotein expression as a marker of differentiation in human oral tumors. *Cancer Lett*. 1999;137(1):117-20.

Bui JD, Carayannopoulos LN, Lanier LL, Yokoyama WM, Schreiber RD: IFN-dependent down-regulation of the NKG2D ligand H60 on tumors. *J Immunol.* 2006;176(2):905-13.

Burger SA, Grosen EA, Ioli GR, Van Eden PJ, Brighbill HD, Gatanaga M, Disaia PJ, Granger GA and Gatanaga T: Host-tumor interactions in ovarian cancer. Spontaneous release of tumor necrosis factor and interleukin-1 inhibitors by purified cell populations from human ovarian carcinoma in vitro. *Gynecol Oncol.* 1994;55: 291-303.

Burgi W, Schmid K. Preparation and properties of Zn- α 2-glycoprotein of normal human plasma. *J Biol Chem.* 236:1066-74.

Butters M, Straub M, Kraft K, Bittner R. Studies on Nutritional Status in General Surgery Patients by Clinical, Anthropometric, and Laboratory Parameters. *Nutrition.* 1996;12(6):405-10.

Cabassi A, Tedeschi S. Zinc- α 2-glycoprotein as a marker of fat catabolism in humans. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2013;16(3):267-71.

Campelo JCL, Lima LC. Clinical and epidemiological profile of early gastric cancer in a referral hospital in Teresina, Piauí. *Rev Bras Can.* 2012;58(1):15-20.

Canna K, McArdle PA, McMillan DC, McNicol AM, Smith GW, McKee RF, McArdle CS. The relationship between tumour T-lymphocyte infiltration, the systemic inflammatory response and survival in patients undergoing curative resection for colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2005;92:651-4.

Carter A, Merchav S, Silvian-Draxler I, Tatarsky I. The role of interleukin-1 and tumour necrosis factor- α in human multiple myeloma. *Br J Haematol.* 1990; 74:424-31.

Cavaillon JM. Cytokines and macrophages. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 1994;48:445-53.

Cessot A, Hebuterne X, Coriat R, Durand JP, Mir O, Mateus C, Cacheux W, Lemarie E, Michallet M, de Montreuil CB, Goldwasser F; French Nutrition Oncology Study Group. Defining the clinical condition of cancer patients: it is time to switch from performance status to nutritional status. *Support Care Cancer.* 2011;19(7):869–70.

Chang CJ, Chen YH, Huang KW, Cheng HW, Chan SF, Tai KF, Hwang LH. Combined GM-CSF and IL-12 gene therapy synergistically suppresses the growth of orthotopic liver tumors. *Hepatology.* 2007;45(3):746-54.

Chaussabel D. Assessment of immune status using blood transcriptomics and potential implications for global health. *Semin Immunol.* 2015;27(1):58-66.

Chen HN, Chen XZ, Zhang WH, Yang K, Chen XL, Zhang B, Chen ZX, Chen JP, Zhou ZG, Hu JK. The impact of body mass index on the surgical outcomes of patients

with gastric cancer: a 10-year, single-institution cohort study. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(42):e1769

Chen MF, Lu MS, Chen PT, Chen WC, Lin PY, Lee KD. Role of interleukin 1 β in esophageal squamous cell carcinoma. *J Mol Med (Berl)*. 2012;90(1):89–100.

Cho SJ, Kook MC, Lee JH, Shin JY, Park J, Bae YK, Choi IJ, Ryu KW, Kim YW. Peroxisome proliferator-activated receptor γ upregulates galectin-9 and predicts prognosis in intestinal-type gastric cancer. *Int J Cancer*. 2015;136(4):810-20.

Cho SJ, Kook MC, Lee JH, Shin JY, Park J, Bae YK, Choi IJ, Ryu KW, Kim YW. Peroxisome proliferator-activated receptor γ upregulates galectin-9 and predicts prognosis in intestinal-type gastric cancer. *Int J Cancer*. 2015;136(4):810-20.

Cominelli F, Nast CC, Duchini A, Lee M. Recombinant interleukin-1 receptor antagonist blocks the proinflammatory activity of endogenous interleukin-1 in rabbit immune colitis. *Gastroenterology*. 1992; 103: 65-71.

Cook MT, Hayball PJ, Hutchinson W, Nowaak B, Hayball JD. The efficacy of a commercial β -glucan preparation, EcoActivaTM, on stimulating respiratory burst activity of head-kidney macrophages from pink snapper (*Pagrus auratus*), Sparidae. *Fish Immunology*. 2001;11:661-72.

Correa P. A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Res*. 1988;48:3554–604.

Crawford RM, Finbloom DS, Chara J, Paul WE, Meltzer MS. B cell stimulatory factor-1 (IL-4) activates macrophages for increased tumoricidal activity and expression of antigens. *Journal of Immunology*. 1987;139:135-41.

Crooks V, Waller S, Smith T, Hahn TJ. The use of the Karnofsky Performance Scale in determining outcomes and risk in geriatric outpatients. *J Gerontol*. 1991;46(4):139-44.

Crumley AB, McMillan DC, McKernan M, Going JJ, Shearer CJ, Stuart RC. An elevated C-reactive protein concentration, prior to surgery, predicts poor cancer-specific survival in patients undergoing resection for gastro-oesophageal cancer. *Br J Cancer*. 2006;94(11):1568-71.

Cui M, Gong C, Jiang B, Yao Z, Chen L, Di J, Xing J, Yang H, Zhang C, Zhang N, Liu M, Tan F, Wang Z, Su X. Evaluation of immune responses of gastric cancer patients treated by laparoscopic and open gastrectomy. *Med Oncol*. 2015;32(11):253.

Cunliffe WJ, Sugarbaker PH. Gastrointestinal malignancy: rationale for adjuvant therapy using early postoperative intraperitoneal chemotherapy. *Br J Surg*. 1989; 76:1082-109.

De Vita F, Orditura M, Galizia G, Romano C, Infusino S, Auriemma A, Lieto E, Catalano G. Serum interleukin-10 levels in patients with advanced gastrointestinal malignancies. *Cancer*. 1999;86:1936-43.

Deans DAC, Wigmore SJ, Gilmour H, Paterson-Brown S, Ross JA, Fearon KCH. Elevated tumour interleukin-1 α is associated with systemic inflammation: a marker of reduced survival in gastro-oesophageal cancer. *British Journal of Cancer*. 2006;95(11):1568-75.

Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev*. 1999; 20:649-88.

Dhingra R, Gona P, Nam BH, D'Agostino RB, Wilson PWF, Benjamin EJ, O'Donnell CJ. C-reactive protein, inflammatory conditions, and cardiovascular disease risk. *Am J Med*. 2007;120:1054-62.

Dias Rodrigues V, Barroso de Pinho N, Abdelhay E, Viola JP, Correia MI, Brum Martucci R. Nutrition and Immune-Modulatory Intervention in Surgical Patients With Gastric Cancer. *Nutr Clin Pract*. 2017;32(1):122-129.

Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Dietary Allowances and Adequate Intakes. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies, 2011
https://ods.od.nih.gov/Health_Information/Dietary_Reference_Intakes.aspx

Díez-Itza I, Sánchez LM, Allende MT, Vizoso F, Ruibal A, López-Otín C. Zn-alpha 2-glycoprotein levels in breast cancer cytosols and correlation with clinical, histological and biochemical parameters. *Eur J Cancer*. 1993;29A(9):1256-60.

Ebadi M, Mazurak VC. Potential Biomarkers of Fat Loss as a Feature of Cancer Cachexia. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:820934.

El-Omar EM. The importance of interleukin 1 β in *Helicobacter pylori* associated disease. *Gut*. 2001;48:743-7.

Engelmann HD, Aderka D, Rubinstein M: A tumor necrosis factor-binding protein purified to homogeneity from human urine protects cells from tumor necrosis factor toxicity. *J Biol Chem*. 1989;264:11947-80.

England H, Summersgill HR, Edye ME, Rothwell NJ, Brough D. Release of interleukin-1 α or interleukin-1 β depends on mechanism of cell death. *J Biol Chem*. 2014;289(23):15942-50.

Falconer JS, Fearon KCH, Plester CE, Ross JA, Carter DC. Cytokines, the acute phase response, and resting energy expenditure in cachectic patients with pancreatic cancer. *Ann Surgery*. 1994;219(4):325-31.

Ferrone C, Dranoff G. Dual roles for immunity in gastrointestinal cancers. *J Clin Oncol* 2010;28:4045-51.

Fiala O, Pesek M, Finek J, Racek J, Minarik M, Benesova L, Bortlicek Z, Sorejs O, Kucera R, Topolcan O. Serum albumin is a strong predictor of survival in patients

with advanced-stage non-small cell lung cancer treated with erlotinib. *Neoplasma*. 2016;63(3):471–6.

Filteau SM, Willumsen JF, Sullivan K, Simmank K, Gamble M. Use of the retinol-binding protein: transthyretin ratio for assessment of vitamin A status during the acute-phase response. *Br J Nutr*. 2000;83(5):513-20.

Fleck A, Raines G, Hawker F, Trotter J, Wallace PI, Ledingham IM, Calman KC. Increased vascular permeability: a major cause of hypoalbuminaemia in disease and injury. *Lancet*. 1985;1(8432):781–4.

Florcken A, Grau M, Wolf A, Weilemann A, Kopp J, Dorken B, Blankenstein T, Pezzutto A, Lenz P, Lenz G, Westermann J. Gene expression profiling of peripheral blood mononuclear cells during treatment with a gene-modified allogeneic tumor cell vaccine in advanced renal cell cancer: tumor-induced immunosuppression and a possible role for NF- κ B. *Int J Cancer*. 2015;136(8):1814-26.

Fonseca-Nunes A, Agudo A, Aranda N, Arija V, Cross AJ, Molina E, Sanchez MJ, Bueno-de-Mesquita HB, Siersema P, Weiderpass E, Krogh V, Mattiello A, Tumino R, Saieva C, Naccarati A, Ohlsson B, Sjöberg K, Boutron-Ruault MC, Cadeau C, Fagherazzi G, Boeing H, Steffen A, Kühn T, Katzke V, Tjønneland A, Olsen A, Khaw KT, Wareham N, Key T, Lu Y, Riboli E, Peeters PH, Gavrila D, Dorronsoro M, Quirós JR, Barricarte A, Jenab M, Zamora-Ros R, Freisling H, Trichopoulou A, Lagiou P, Bamia C, Jakyszyn P. Body iron status and gastric cancer risk in the EURGAST study. *Int J Cancer*. 2015;137(12):2904-14.

Fortis C, Foppoli M, Gianotti L, Galli L, Citterio G, Consogno G, Gentilini O, Braga M. Increased interleukin-10 serum levels in patients with solid tumours. *Cancer Lett*. 1966;104:1-5.

Fukuda Y, Yamamoto K, Hirao M, Nishikawa K, Maeda S, Haraguchi N, Miyake M, Hama N, Miyamoto A, Ikeda M, Nakamori S, Sekimoto M, Fujitani K, Tsujinaka T. Prevalence of Malnutrition Among Gastric Cancer Patients Undergoing Gastrectomy and Optimal Preoperative Nutritional Support for Preventing Surgical Site Infections. *Ann Surg Oncol*. 2015;22(3):S778-85.

Fukuda Y, Yamamoto K, Hirao M, Nishikawa K, Nagatsuma Y, Nakayama T, Tanikawa S, Maeda S, Uemura M, Miyake M, Hama N, Miyamoto A, Ikeda M, Nakamori S, Sekimoto M, Fujitani K, Tsujinaka T. Sarcopenia is associated with severe postoperative complications in elderly gastric cancer patients undergoing gastrectomy. *Gastric Cancer*. 2016;19(3):986-93.

Furuta S, Goto H, Niwa Y, Ohmiya N, Kamiya K, Oguri A, Hayakawa T, Mori N. Interferon-gamma regulates apoptosis by releasing soluble tumor necrosis factor receptors in a gastric epithelial cell line. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2002;17:1283-90.

Gardinassi LG, Garcia GR, Costa CH, Costa Silva V, de Miranda Santos IK. Blood Transcriptional Profiling Reveals Immunological Signatures of Distinct

States of Infection of Humans with *Leishmania infantum*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(11):e0005123.

Gatanaga T, Granger GA. Basic and clinical studies of soluble tumor necrosis factor/lymphotoxin receptors. In: *Tumor Necrosis Factor: Molecular and Cellular Biology and Clinical Relevance*. Fiers W and Buurmann WA (eds). Karger, Basel, 1993:187-90.

Gong Z, Ma J, Su H, Guo T, Cai H, Chen Q, Zhao X, Qi J, Du J. Interleukin-1 receptor antagonist inhibits angiogenesis in gastric cancer. *Int J Clin Oncol*. 2018; doi: 10.1007/s10147-018-1242-2.

Granell S, Pereda J, Gomez-Cambronero L, Cassinello N, Sabater L, Closa D and Sastre J: Circulating TNF-alpha and its soluble receptors during experimental acute pancreatitis. *Cytokine*. 2004; 25:187-91.

Granowitz EV, Clark BD, Mancilla J, et al: Interleukin-1 receptor antagonist competitively inhibits the binding of interleukin-1 to the type-II interleukin-1 receptor. *J Biol Chem*. 1991;266:14147-50.

Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity inflammation and cancer. *Cell*. 2010;140(6):883-99.

Grundmann O, Yoon SL, Williams JJ. The value of bioelectrical impedance analysis and phase angle in the evaluation of malnutrition and quality of life in cancer patients- a comprehensive review. *Eur J Clin Nutr*. 2015;69(12):1290-7.

Gulen ST, Karadag F, Karul AB, Kilicarslan N, Ceylan E, KumanNK, Cildaq O. Adipokines and systemic inflammation in weight-losing lung cancer patients. *Lung*. 2012;190(3):327-32.

Gupta D, Lis CG, Dahlk SL, King J, Vashi PG, Grutsch JF, Lammersfeld CA. The relationship between bioelectrical impedance phase angle and subjective global assessment in advanced colorectal cancer. *Nutr J*. 2008;7:19.

Hajdu SI, Vadmal M, Tang P. A note from history: Landmarks in history of cancer, part 7: Landmarks in History of Cancer, Part 7. *Cancer*. 2015;121(15):2480-513.

Hale LP, Price DT, Sanchez LM, Demark-Wahnefried W, Madden JF. Zinc alpha-2-glycoprotein is expressed by malignant prostatic epithelium and may serve as a potential serum marker for prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2001;7(4):846-53.

Halpern-Silveira D, Susin LR, Borges LR, Paiva SI, Assunção MC, Gonzalez MC. Body weight and fat-free mass changes in a cohort of patients receiving chemotherapy. *Support Care Cancer*. 2010;18(5):617-25.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74.

Hassan MI, Waheed A, Yadav S, Singh TP, Ahmad F. Zinc alpha 2-glycoprotein: a multidisciplinary protein. *Mol Cancer Res*. 2008;6(6):892-906.

Heikkilä K, Ebrahim S, Lawlor DA. Systematic review of the association between circulating interleukin-6 (IL-6) and cancer. *Eur J Cancer*. 2008;44:937-45.

Henderson B, Thompson RC, Hardingham T, Lewthwaite J. Inhibition of interleukin-1-induced synovitis and articular cartilage proteoglycan loss in the rabbit knee by recombinant human interleukin-1 receptor antagonist. *Cytokine*. 1991; (3):246-9.

Henshall SM, Horvath LG, Quinn DI, Eggleton SA, Grygiel JJ, Stricker PD, Biankin AV, Kench JG, Sutherland RL. Zinc-alpha2-glycoprotein expression as a predictor of metastatic prostate cancer following radical prostatectomy. *J Natl Cancer Inst*. 2006;98(19):1420-4.

Hold GL, Rabkin CS, Chow WH, Smith MG, Gammon MD, Risch HA, Vaughan TL, McColl KE, Lissowska J, Zatonski W, Schoenberg JB, Blot WJ, Mowat NA, Fraumeni JF Jr, El-Omar EM. A functional polymorphism of toll-like receptor 4 gene increases risk of gastric carcinoma and its precursors. *Gastroenterology*. 2007;132:905–12.

Holland G, Zlotnik A. Interleukin-10 and cancer. *Cancer Invest*. 1993;11:751–8.

Hong WS, Min YI, Son YS, Hong SI. Peripheral blood lymphocyte subsets in patients with stomach cancer. *J Korean Med Sci*. 1995;10:164-8.

Hordyjewska A, Popiolek L, Kocot J. The many “faces” of copper in medicine and treatment. *Biometals*. 2014;27(4):611-21.

Hosseinzadeh A, Somi MH, Dolatkah H, Esfahani A, Kafil HS, Ardebili SM. The effect of ω -fatty acids on mRNA expression level of PPAR γ in patients with gastric adenocarcinoma. *Exp Oncol*. 2016;38(3):191-4.

Howard M, O'Garra A, Ishida H, de Waal Malefyt R, de Vries J. Biologic properties of interleukin-10. *J Clin Immunol*. 1992;12:239-47.

Hu JL, Yang Z, Tang JR, Fu XQ, Yao LJ. Effects of gastric cancer cells on the differentiation of Treg cells. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013;14(8):4607-10.

Huang Q, Zhang X, Jiang ZW, Liu BZ, Li N, Li JS. Hypoleptinemia in gastric cancer patients: relation to body fat mass, insulin, and growth hormone. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2005;29(4):229-35.

Huang Y, Li LZ, Zhang CZ, Yi C, Liu LL, Zhou X, Xie GB, Cai MY, Li Y, Yun JP. Decreased expression of zinc-alpha2-glycoprotein in hepatocellular carcinoma associates with poor prognosis. *J Transl Med*. 2012;10:106.

Ikeguchi M, Hatada T, Yamamoto M, Miyake T, Matsunaga T, Fukumoto Y, Yamada Y, Fukuda K, Saito H, Tatebe S. Serum interleukin-6 and -10 levels in patients with gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2009;12(2):95-100.

Ilhan N, Ilhan N, Ilhan Y, Akbulut H, Kucuksu M. C-reactive protein, procalcitonin, interleukin-6, vascular endothelial growth factor and oxidative metabolites in diagnosis of infection and staging in patients with gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2004;10(8):1115-20.

Instituto Nacional de Câncer (INCA). Brasil. Ministério da Saúde. Estimativa 2014 - Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro. 2015;124.

Inui, A. Cancer anorexia-cachexia syndrome: current issues in research and management. *CA Cancer J Clin*. 2002;52(2):72-91.

Ishikawa M, Nishioka M, Hanaki N, Miyauchi T, Kashiwagi Y, Ioki H, Kagawa A, Nakamura Y. Perioperative immune responses in cancer patients undergoing digestive surgeries. *World J Surg Oncol*. 2009 ;12;7:7.

Iwagaki H, Hizuta A, Kohka H, et al: Circulating levels of soluble CD30 and other markers in colorectal cancer patients. *J Med*. 1999; 30:111-21.

Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik. *Imunobiologia*. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2002:767.

Jernas M, Palming J, Sjöholm K, Jennische E, Svensson PA, Gabrielsson BG, Levin M, Sjögren A, Rudemo M, Lystig TC, Carlsson B, Carlsson LM, Lonn M. Separation of human adipocytes by size: hypertrophic fat cells display distinct gene expression. *Faseb J*. 2006; 20(9):1540-2.

Ji X, Cheung R, Cooper S, Li Q, Greenberg HB, He XS. Interferon alfa regulated gene expression in patients initiating interferon treatment for chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;37(3):610-21.

Jiang N, Deng JY, Ding XW, Ke B, Liu N, Zhang RP, Liang H. Prognostic nutritional index predicts postoperative complications and long-term outcomes of gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20(30):10537–44.

Kabir S, Daar GA. Serum levels of interleukin-1, interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha in patients with gastric carcinoma. *Cancer Lett*. 1995;95(1-2):207-12.

Kalvakolanu DV, Borden EC. An overview of the interferon system:signal transduction and mechanisms of action. *Cancer Invest*. 1996;14(1):25-53.

Kim DK, Oh SY, Kwon HC, Lee S, Kwon KA, Kim BG, Kim SG, Kim SH, Jang JS, Kim MC, Kim KH, Han JY, Kim HJ. Clinical significances of preoperative serum interleukin-6 and C-reactive protein level in operable gastric cancer. *BMC Cancer*. 2009;9:155.

Kim JY, Bae BN, Kang G, Kim HJ, Park K. Cytokine expression associated with *Helicobacter pylori* and Epstein-Barr virus infection in gastric carcinogenesis. *APMIS*. 2017;125(9):808-15.

Kim SY, Kim MS, Lee MK, Kim JS, Yi HK, Nam SY, Lee DY, Hwang PH. PPAR γ induces growth inhibition and apoptosis through upregulation of insulin-like growth factor-binding protein-3 in gastric cancer cells. *Braz J Med Biol Res*. 2015;48(3):226-33.

Kinoshita H, Hirata Y, Nakagawa H, Sakamoto K, Hayakawa Y, Takahashi R, Nakata W, Sakitani K, Serizawa T, Hikiba Y, Akanuma M, Shibata W, Maeda S, Koike K. Interleukin-6 mediates epithelial-stromal interactions and promotes gastric tumorigenesis. *Plos One*. 2013;8:e60914.

Kirsner JB. Certain Medical Aspects Of Gastric Carcinoma. *J Natl Med Assoc*. 1948;40(6):241-7.

Klimp AH, Vries EGE, Scherphof G, Daement TA. A potencial role of macrophage activation in the treatment of cancer. *Critical Reviews in oncology/hematology*. 2002;44:143-61.

Kong B, Michalski CW, Hong X, Valkovskaya N, Rieder S, Abiatari I, Streit S, Erkan M, Esposito I, Friess H, Kleeff J. AZGP1 is a tumor suppressor in pancreatic cancer inducing mesenchymal-to-epithelial transdifferentiation by inhibiting TGF- β -mediated ERK signaling. *Oncogene*. 2010;29(37):5146-58.

Kono H, Rock KL. How dying cells alert the immune system to danger. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(4):279-89.

Konturek PC, Kania J, Kukharsky V, Raithel M, Ocker M, Rembiasz K, Hahn EG, Konturek SJ. Implication of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and proinflammatory cytokines in gastric carcinogenesis: link to *Helicobacter pylori*-infection. *J Pharmacol Sci*. 2004;96:134-43.

Kuper H, Adami HO, Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human cancer. *J Intern Med* 2000;248(3):171–83.

Kuroda D, Sawayama H, Kurashige J, Iwatsuki M, Eto T, Tokunaga R, Kitano Y, Yamamura K, Ouchi M, Nakamura K, Baba Y, Sakamoto Y, Yamashita Y, Yoshida N, Chikamoto A, Baba H. Controlling Nutritional Status (CONUT) score is a prognostic marker for gastric cancer patients after curative resection. *Gastric Cancer*. 2017; doi: 10.1007/s10120-017-0744-3.

Kwon HC, Kim SH, Oh SY, Lee S, Lee JH, Jang JS, Kim MC, Kim KH, Kim SJ, Kim SG, Kim HJ. Clinicopathologic significance of expression of nuclear factor- κ B RelA and its target gene products in gastric cancer patients. *World J Gastroenterol*. 2012;18(34):4744-50.

Lee JM, Kim SS, Cho YS. The Role of PPAR γ in *Helicobacter pylori* Infection and Gastric Carcinogenesis. *PPAR Res*. 2012;2012:687570.

- Lee SH, Aggarwal BB, Rinderknecht E, Assisi F, Chiu H. The synergistic anti-proliferative effect of α -interferon and human lymphotoxin. *J. Immunol.* 1984; 133:1083–6.
- Lehrke M, Lazar MA. The many faces of PPAR- γ . *Cell.* 2005;123(6):993-9.
- Leu RW, Zhou AQ, Kennedy MJ, Shannon BJ. Exogenous C1q reconstitutes a secondary deficiency of C5-deficient AKR mouse macrophages for FcR-dependent cellular cytotoxicity and phagocytosis. *Journal of Immunology.* 1991;146:1233-9.
- Lewis AM, Varghese S, Xu H, Alexander HR. Interleukin-1 and cancer progression: the emerging role of interleukin-1 receptor antagonist as a novel therapeutic agent in cancer treatment. *J Transl Med.* 2006;4:48.
- Liang J, Li Y, Liu X, Xu X, Zhao Y. Relationship between cytokine levels and clinical classification of gastric cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011;12(7):1803-6.
- Lis CG, Grutsch JF, Vashi PG, Lammersfeld CA. Is serum albumin an independent predictor of survival in patients with breast cancer? *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2003;27(1):10–5.
- Liu X, Xu P, Qiu H, Xu D, Li W, Zhan Y, Li Y, Chen Y, Zhou Z, Sun X. Preoperative Nutritional Deficiency Is a Useful Predictor of Postoperative Outcome in Patients Undergoing Curative Resection for Gastric Cancer. *Transl Oncol.* 2016;9(6):482-488
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using RealTime Quantitative PCR and the 2^{-DDCT} Method. *Methods.* 2001;25:402-8.
- Llovera M, García-Martínez C, López-Soriano J, Agell N, López-Soriano FJ, Garcia I, Argilés JM. Protein turnover in skeletal muscle of tumour-bearing transgenic mice overexpressing the soluble TNF receptor-1. *Cancer Lett.* 1998 Aug 14;130(1-2):19-27.
- Lopetuso LR, Chowdhry S, Pizarro TT. Opposing functions of classic and novel IL-1 family members in gut health and disease. *J Front Immunol.* 2013;4:181–220.
- Ma XM, Yu H, Huai N. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ is essential in the pathogenesis of gastric carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2009;15(31): 3874-83.
- Maccio A, Madeddu C, Gramignano G, Mulas C, Tanca L, Cherchi MC, Floris C, Omoto I, Barracca A, Ganz T. The role of inflammation, iron, and nutritional status in cancer-related anemia: results of a large, prospective, observational study. *Haematologica.* 2015;100(1):124-32.
- Macrì A, Versaci A, Loddo S, Scuderi G, Travagliente M, Trimarchi G, Teti D, Famulari C. Serum levels of interleukin 1 β , interleukin 8 and tumour necrosis factor α as markers of gastric cancer. *Biomarkers.* 2006;11(2):184-93.
- Matos-Neto EM, Lima JDCC, Pereira WO, Figuerêdo RG, Riccardi DMR, Radloff K, Neves RX, Camargo Rg, Maximiano LF, Tokeshi F, Otoch JP, Goldszmid R, Câmara

NOS, Trinchieri G, Alcântara PSM, Seelaender M. Systemic inflammation in cachexia – is Tumor cytokine expression Profile the culprit? *Front Immunol.* 2015;6:629.

Matsuo Y, Sawai H, Funahashi H, Takahashi H, Sakamoto M, Yamamoto M, Okada Y, Hayakawa T, Manabe T. Enhanced angiogenesis due to inflammatory cytokines from pancreatic cancer cell lines and relation to metastatic potential. *J Pancreas.* 2004; 28(3):344-52.

Matusiewicz M, Neubauer K, Lewandowska P, Gamian A, Krzystek-Korpacka M. Reduced Transferrin Levels in Active Inflammatory Bowel Disease. *Biomed Res Int.* 2017;2017:9541370.

Michalik L, Auwerx J, Berger JP, Chatterjee VK, Glass CK, Gonzalez FJ, Grimaldi PA, Kadowaki T, Lazar MA, O'Rahilly S, Palmer CN, Plutzky J, Reddy JK, Spiegelman BM, Staels B, Wahli W. International Union of Pharmacology. LXI. Peroxisome proliferator-activated receptors. *Pharmacol Rev.* 2006;58(4):726-41.

Mitch WE, Goldberg AL. Mechanisms of muscle wasting. The role of the ubiquitin-proteasome pathway. *N Engl J Med.* 1996;335:1897-905.

Morita D, Ichikura T, Mochizuki H. The expression of PPAR gamma in gastric cancer. *Nippon Rinsho.* 2001;59(4): 595-7.

Mózsik G, Rumi G, Dömötör A, Figler M, Gasztonyi B, Papp E, Pár A, Pár G, Belágyi J, Matus Z, Melegh B. Involvement of serum retinoids and Leiden mutation in patients with esophageal, gastric, liver, pancreatic, and colorectal cancers in Hungary. *World J Gastroenterol.* 2005;28;11(48):7646-50.

Mracek T, Stephens NA, Gao D, Bao Y, Ross JA, Rydén M, Arner P, Trayhurn P, Fearon KC, Bing C. Enhanced ZAG production by subcutaneous adipose tissue is linked to weight loss in gastrointestinal cancer patients. *Br J Cancer.* 2011;104(3):441-7.

Mueller TC, Schirren R, Kehl V, Friess H, Reim D, Martignoni ME. Parenteral nutrition during neoadjuvant chemotherapy for patients with non-metastatic gastric or esophago-gastric cancer to reduce postoperative morbidity (PERCOG): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 2017;18(1):621.

Muraro CLPM. Early gastric cancer: contribution to diagnosis and results of surgical treatment. *Rev Col Bras Cir.* 2003;30(5):352-8.

Nakazaki H. Preoperative and postoperative cytokines in patients with cancer. *Cancer.* 1992;70(3):709-13.

Nathan CF. Secretory products of macrophages. *The Journal of Clinical Investigation,* New Haven. 1987;79:319-26.

Nichita C, Ciarloni L, Monnier-Benoit S, Hosseinian S, Dorta G, Rüegg C. A novel gene expression signature in peripheral blood mononuclear cells for early detection of colorectal cancer. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(5):507-17.

Numeroso F, Barilli AL, Delsignore R. Prevalence and significance of hypoalbuminemia in an internal medicine department. *Eur J Intern Med.* 2008;19(8):587-91.

O'Riordain MG, Falconer JS, Maingay J, Fearon KC, Ross JA. Peripheral blood cells from weight-losing cancer patients control the hepatic acute phase response by a primarily interleukin-6 dependent mechanism. *Int J Oncol.* 1999;15(4):823-7.

O'Riordan JM, Abdel-Latif MM, Ravi N, McNamara D, Byrne PJ, McDonald GS, Keeling PW, Kelleher D, Reynolds JV. Proinflammatory cytokine and nuclear factor kappa-B expression along the inflammationmetaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence in the esophagus. *Am J Gastroenterol.* 2005;100:1257-64.

Ohkubo I, Niwa M, Sasaki M. Purification and characterization of human plasma Zn-a2-glycoprotein. *Prep Biochem.* 1988;18:413-30.

Orditura M, Galizia G, Sforza V, Gambardella V, Fabozzi A, Laterza MM, Andreozzi F, Ventriglia J, Savastano B, Mabilia A, Lieto E, Ciardiello F, De Vita F. Treatment of gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2014;20(7):1635-49.

Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, Valdez PA, Hymowitz SG. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease, *Annu Rev Immunol.* 2011;29:71-109.

Palan PR, Woodall AL, Anderson PS, Mikhail MS. Alpha-tocopherol and alpha-tocopheryl quinone levels in cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;190(5):1407-10.

Panelli MC, Wang E, Phan G, Puhlmann M, Miller L, Ohnmacht GA, Klein HG, Marincola FM. Gene-expression profiling of the response of peripheral blood mononuclear cells and melanoma metastases to systemic IL-2 administration. *Genome Biol.* 2002;3(7):RESEARCH0035.

Pedersen BK, Febbraio M Muscle-derived interleukin-6-a possible link between skeletal muscle, adipose tissue, liver, and brain. *Brain Behav Immun.* 2005;19(5):371-6.

Peng P, Hyder O, Firoozmand A, Kneuert P, Schulick RD, Huang D, Makary M, Hirose K, Edil B, Choti MA, Herman J, Cameron JL, Wolfgang CL, Pawlik TM. Impact of Sarcopenia on outcomes Following Resection of Pancreatic Adenocarcinoma. *J Gastrointest Surg.* 2012;16:1478-86.

Peng W, Hua RX, Jiang R, Ren C, Jia YN, Li J, Guo WJ. Surgical treatment for patients with Krukenberg tumor of stomach origin: clinical outcome and prognostic factors analysis. *Plos One.* 2013;8:e68227.

Pérez-Camargo DA, Allende-Pérez SR, Rivera-Franco MM, Álvarez-Licona NE, Urbalejo-Ceniceros VI, Figueroa-Baldenegro LE. Phase Angle of Bioelectrical Impedance Analysis as Prognostic Factor in Palliative Care Patients at the National Cancer Institute in Mexico. *Nutr Cancer*. 2017;69(4):601-6.

Perez-Perez GI, Garza-Gonzalez E, Portal C, Olivares AZ. Role of cytokine polymorphisms in the risk of distal gastric cancer development. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14:1869-73.

Peters JM, Shah YM, Gonzalez FJ. The role of peroxisome proliferator-activated receptors in carcinogenesis and chemoprevention. *Nat Rev Cancer*. 2012;12: 181-95.

Ponnampalam SN, Kamaluddin NR, Zakaria Z, Matheneswaran V, Ganesan D, Haspani MS, Ryten M, Hardy JA. A blood-based gene expression and signaling pathway analysis to differentiate between high and low grade gliomas. *Oncol Rep*. 2017;37(1):10-22.

Poortmans JR, Schmid K. The level of Zn-a2-glycoprotein in normal human body fluids and kidney extract. *J Lab Clin Med*. 1968;71:807-11.

Projeto Diretrizes. - Associação Médica Brasileira; Brasília - Conselho Federal de Medicina, v. IX, São Paulo, 2011.

Pullyblank AM, Guillou PJ, Monson JR. Interleukin-1 and tumornecrosis factor alpha may be responsible for the lytic mechanism during anti-tumourantibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. *British Journal of Cancer*. 1995;72:601-6.

Ramilo O, Allman W, Chung W, Mejias A, Ardura M, Glaser C, Wittkowski KM, Piqueras B, Banchereau J, Palucka AK, Chaussabel D. Gene expression patterns in blood leukocytes discriminate patients with acute infections. *Blood*. 2007;109(5):2066-77.

Ren P, Zhang Y, Huang Y, Yang Y, Jiang M. Functions of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) in gynecologic disorders. *Clin Med Insights Oncol*. 2015; 9:43-9.

Ribeiro SM, Moya AM, Braga CB, Domenici FA, Feitosa MR, Feres O, Rocha JJ, Cunha SF. Copper-Zinc ratio and nutritional status in colorectal cancer patients during the perioperative period. *Acta Cir Bras*. 2016;31 Suppl 1:24-8.

Ribeiro, SMF. Suplementação de zinco nos marcadores de estresse oxidativo no pós-operatório de câncer cólon-retal durante ciclos de quimioterapia. 2013. Dissertação (Mestrado investigação Biomédica - Clínica Médica) – Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Ribeiro, SMF; Cunha, SFC; Peria, FM; Oliveira HF; Manual dietoterápico para pacientes Oncológicos sob quimio e radioterapia, do Serviço de Oncologia do HC-FMRP-USP, Ribeirão Preto-SP; 2012

Rino Y, Yukawa N, Sato T, Yamamoto N, Tamagawa H, Hasegawa S, Hayashi T, Atsumi Y, Oshima T, Yoshikawa T, Masuda M, Imada T. Vitamin E deficiency begins within 6 months after gastrectomy for gastric cancer. *World J Surg.* 2014;38(8):2065-9.

Roman J. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and lung cancer biology: implications for therapy. *J Investig Med.* 2008;56:528-33.

Roshani R, McCarthy F, Hagemann T. Inflammatory cytokines in human pancreatic cancer. *Cancer Lett.* 2014;345(2):157-63.

Roxburgh CSD, McMillan DC. Cancer and systemic inflammation: treat the tumour and treat the host. *Br J Cancer.* 2014;110(6):1409-12.

Russell ST and Tisdale MJ: The role of glucocorticoids in the induction of zinc-alpha2-glycoprotein expression in adipose tissue in cancer cachexia. *Br J Cancer.* 2005;92:876-81.

Rydén M, Agustsson T, Andersson J, Bolinder J, Toft E, Arner P. Adipose zinc-alpha2-glycoprotein is a catabolic marker in cancer and noncancerous states. *J Intern Med.* 2012; 271(4):414-20.

Rydén M, Agustsson T, Andersson J, Bolinder J, Toft E, Arner P. Adipose zinc- α 2-glycoprotein is a catabolic marker in cancer and noncancerous states. *J Intern Med.* 2012;271(4):414-20.

Rydén M, Agustsson T, Laurencikiene J, Britton T, Sjölin E, Isaksson B, Permert J, Arner P. Lipolysis-not inflammation, cell death, or lipogenesis - is involved in adipose tissue loss in cancer cachexia. *Cancer.* 2008;113(7):1695-704.

Sakamoto T, Saito H, Tatebe S, Tsujitani S, Ozaki M, Ito H, et al. Interleukin-10 expression significantly correlates with minor CD8+ T-cell infiltration and high microvessel density in patients with gastric cancer. *Int J Cancer.* 2006;118:1909-14.

Salas S, Deville JL, Giorgi R, Pignon T, Bagarry D, Barrau K, Zanaret M, Giovanni A, Bourgeois A, Favre R, et al. Nutritional factors as predictors of response to radio-chemotherapy and survival in unresectable squamous head and neck carcinoma. *Radiother Oncol.* 2008;87(2):195–200.

Salgado R, Vermeulen PB, Benoy I, Weyjens R, Huget P, Van Marck E, Dirix LY. Platelet number and interleukin6 correlate with VEGF but not with bFGF serum levels of advanced cancer patients. *Br J Cancer.* 1999; 80: 892-7.

Sánchez-Zauco N, Torres J, Gómez A, Camorlinga-Ponce M, Muñoz-Pérez L, Herrera-Goepfert R, Medrano-Guzmán R, Giono-Cerezo S, Maldonado-Bernal C. Circulating blood levels of IL-6, IFN- γ , and IL-10 as potential diagnostic biomarkers in gastric cancer: a controlled study. *BMC Cancer.* 2017;17(1):384.

- Sánchez-Zauco N, Torres J, Gómez A, Camorlinga-Ponce M, Muñoz-Pérez L, Herrera-Goepfert R, Medrano-Guzmán R, Giono-Cerezo S, Maldonado-Bernal C. Circulating blood levels of IL-6, IFN- γ , and IL-10 as potential diagnostic biomarkers in gastric cancer: a controlled study. *BMC Cancer*. 2017;17(1):384.
- Sauter KA, Wood LJ, Wong J, Iordanov M, Magun BE. Doxorubicin and daunorubicin induce processing and release of interleukin-1 β through activation of the NLRP3 inflammasome. *Cancer Biol Ther*. 2011;11(12):1008-16.
- Scholte GH, van Doorn LJ, Cats A, Bloemena E, Lindeman J, Quint WG, Meuwissen SG, Kuipers EJ. Genotyping of *Helicobacter pylori* in paraffin-embedded gastric biopsy specimens: relation to histological parameters and effects on therapy. *Am J Gastroenterol*. 2002;97:1687–95.
- Schoonjans K, Staels B, Auwerx J. The peroxisome proliferator activated receptors (PPARS) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochim Biophys Acta*. 1996;1302:93-109.
- Schwartzburd PM. Chronic inflammation as inductor of pro-cancer microenvironment: pathogenesis of dysregulated feedback control. *Cancer Metastasis Rev*. 2003;22:95-102.
- Seo KW, Yoon KY. Nutritional assessment and perioperative nutritional support in gastric cancer patients. *Korean J Gastroenterol*. 2013;61(4):186-90.
- Shepherd VL, Lee YC, Schlesinger PH, Stahl PD. L-Fucose-terminated glycol-conjugates are recognized by pinocytosis receptors on macrophages. *Proceedings of National Academy of Sciences*. 1981;78:1019-22.
- Shi J, Qu YP, Hou P. Pathogenetic mechanisms in gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20:13804–19.
- Shibata M, Takekawa M, Amano S. Increased serum concentrations of soluble tumor necrosis factor receptor I in noncachectic and cachectic patients with advanced gastric and colorectal cancer. *Surg Today*. 1998;28(9):884-8.
- Shimamura H, Iwagaki H, Gouchi A, Morimoto Y, Ariki N, Funaki M, Tanaka N. Autologous serum deprivation restored IL-1 receptor antagonist production by peripheral blood mononuclear cells in patients with gastric cancer. *J Int Med Res*. 2000;28(6):277-87.
- Shimamura H, Iwagaki H, Gouchi A, Morimoto Y, Ariki N, Funaki M, Tanaka N. Autologous serum deprivation restored IL-1 receptor antagonist production by peripheral blood mononuclear cells in patients with gastric cancer. *J Int Med Res*. 2000;28(6):277-87.
- Skipworth RJ, Stewart GD, Bhana M, Christie J, Sturgeon CM, Guttridge DC, Cronshaw AD, Fearon KC, Ross JA. Mass spectrometric detection of candidate protein biomarkers of cancer cachexia in human urine. *Int J Oncol*. 2010;36(4):973-82.

Skipworth RJ, Stewart GD, Dejong CH, Preston T, Fearon KC. Pathophysiology of cancer cachexia: much more than host-tumour interaction? *Clin Nutr.* 2007;26(6):667-76.

Slaviero KA, Clarke SJ, Rivory LP. Inflammatory response: an unrecognised source of variability in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of cancer chemotherapy. *Lancet Oncol.* 2003;4:224-32.

Nabioullin R, Sone S, Mizuno K, Yano S, Nishioka Y, Haku T, Ogura T. Interleukin-10 is a potent inhibitor of tumor cytotoxicity by human monocytes and alveolar macrophages. *J Leukocyte Biol.* 1994;55:437-42.

Spinas JA, Keller U, Bockhaus M: Release of soluble receptors for tumor necrosis factor (TNF) in relation to circulating TNF during experimental endotoxemia. *J Clin Invest.* 1992;90:533-6.

Stanilov N, Miteva L, Cirovski G, Stanilova SA. Increased transforming growth factor β and interleukin 10 transcripts in peripheral blood mononuclear cells of colorectal cancer patients. 2016; 20(6):458-62.

Stanilov N, Miteva L, Dobrev Z, Jovchev J, Cirovski G, Stanilova S. Monocytes expression of IL-12 related and IL-10 genes in association with development of colorectal cancer. *Mol Biol Rep.* 2012;39:10895-902.

Stephensen CB, Gildengorin G. Serum retinol, the acute phase response, and the apparent misclassification of vitamin A status in the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:1170-8.

Stone-Wolff DS, Yip YK, Kelker HC et al. Interrelationships of human interferon-gamma with lymphotoxin and monocyte cytotoxin. *J Exp Med.* 1984;159:828-43.

Strassmann G, Fong M, Freter CE, Windsor S, D'Alessandro F, Nordan RP. Suramin interferes with IL-6 receptor binding in vitro and inhibits colon-26-mediated experimental cancer cachexia in vivo. *J Clin Invest.* 1993a;92(5):2152-9.

Strassmann G, Masui Y, Chizzonite R, Fong M. Mechanisms of experimental cancer cachexia. Local involvement of IL-1 in colon-26 tumour. *J Immunol.* 1993b;150(6):2341-5.

Ströhle A, Zänker K, Hahn A. Nutrition in oncology: the case of micronutrients. *Oncol Rep.* 2010;24(4):815-28.

Studley HO. Percentage of weight loss: a basic indicator of surgical risk in patients with chronic peptic ulcer. *JAMA.* 1936;106:458.

Su Z, Sun Y, Zhu H, Liu Y, Lin X, Shen H, Chen J, Xu W, Xu H. Th17 cell expansion in gastric cancer may contribute to cancer development and metastasis. *Immunol Res.* 2014;58(1):118-24.

- Sun F, Sun Y, Yu Z, Zhang D, Zhang J, Song B, Zheng H. Interleukin-10 gene polymorphisms influence susceptibility to cachexia in patients with low-third gastric cancer in a Chinese population. *Mol Diagn Ther*. 2010;14(2):95-100.
- Sun J, Wang D, Mei Y, Jin H, Zhu K, Liu X, Zhang Q, Yu J. Value of the prognostic nutritional index in advanced gastric cancer treated with preoperative chemotherapy. *J Surg Res*. 2017;209:37-44.
- Szaflarska A, Szczepanik A, Siedlar M, Czupryna A, Sierzega M, Popiela T, Zembala M. Preoperative plasma level of IL-10 but not of proinflammatory cytokines is an independent prognostic factor in patients with gastric cancer. *Anticancer Res*. 2009;29(12):5005-12.
- Szczepanik AM, Scislo L, Scully T, Walewska E, Siedlar M, Kolodziejczyk P, Lenart M, Rutkowska M, Galas A, Czupryna A, Kulig J IL-6 serum levels predict postoperative morbidity in gastric cancer patients. *Gastric Cancer*. 2011;14(3):266-73.
- Szkaradkiewicz A, Karpiński TM, Drews M, Borejsza-Wysocki M, Majewski P, Andrzejewska E. Natural killer cell cytotoxicity and immunosuppressive cytokines (IL-10, TGF-beta1) in patients with gastric cancer. *J Biomed Biotechnol*. 2010; 2010:901564.
- Tada T, Ohkubo I, Niwa M, Sasaki M, Tateyama H, Eimoto T. Immunohistochemical localization of Zn-alpha 2-glycoprotein in normal human tissues. *J Histochem Cytochem*. 1991;39(9):1221-6.
- Tan BH, Ross JA, Kaasa S, Skorpen F, Fearon KC, European Palliative Care Research Collaborative. Identification of possible genetic polymorphisms involved in cancer cachexia: a systematic review. *J Genet*. 2011;90(1):165-77.
- Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology. *Copper Biomed Pharmacother*. 2003;57(9):386-98.
- Tegels JJ, de Maat MF, Hulsewé KW, Hoofwijk AG, Stoot JH. Value of geriatric frailty and nutritional status assessment in predicting postoperative mortality in gastric cancer surgery. *J Gastrointest Surg*. 2014;18(3):439-45.
- Tian J; Chen JS. Nutritional status and quality of life of the gastric cancer patients in Changle County of China. *World J Gastroenterol*. 2005;11(11):1582-6.
- Tontonoz P, Spiegelman BM. Fat and beyond: the diverse biology of PPARgamma. *Annu Rev Biochem*. 2008;77:289-312.
- Toso S, Piccoli A, Gusella M, Menon D, Crepaldi G, Bononi A, Ferrazzi E. Bioimpedance vector pattern in cancer patients without disease versus locally advanced or disseminated disease. *Nutrition*. 2003;19(6):510-4.
- Touitou Y; Haus E. *Biologic Rhythms in Clinical and Laboratory Medicine*. Springer Verlag, Berlin, 1994,687-688p.

Trikha M, Corringham R, Klein B, Rossi JF. Targeted anti-interleukin-6 monoclonal antibody therapy for cancer: a review of the rationale and clinical evidence. *Clin Cancer Res* 2003;9:4653-65.

Tyagi S, Gupta P, Saini A, Kaushal C, Sharma S. The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases. *J Adv Pharm Technol Res.* 2011;2:236-40.

Us Altay D, Keha EE, Ozer Yaman S, Ince I, Alver A, Erdogan B, Canpolat S, Cobanoglu U, Mentese A. Investigation of the expression of irisin and some cachectic factors in mice with experimentally induced gastric cancer. *QJM.* 2016;109(12):785-90.

Vadiveloo PK, Vairo G, Hertzog P, Kola I, Hamilton JA. Role of type I interferons during macrophage activation by lipopolysaccharide. *Cytokine.* 2000;12:1639-46.

Verde SMML. Impacto do tratamento quimioterápico no estado nutricional e no comportamento alimentar de pacientes com neoplasia mamária e suas consequências na qualidade de vida (dissertação de mestrado). São Paulo: Universidade de São Paulo; 2007.

Wang CS, Sun CF. C-reactive protein and malignancy: clinico-pathological association and therapeutic implication. *Chang Gung Med J.* 2009;32(5):471-82.

Wang SX, Tang RF, Zhang FR, Peng L, Wang SX, Xiao Y, Zhang M. Interleukin-1 α , 6 regulate the secretion of vascular endothelial growth factor A, C in pancreatic cancer. *Hepatobiliary Pancreat Dis. Int.* 2005;4:460-3.

Wang Z, Si X, Xu A, Meng X, Gao S, Qi Y, Zhu L, Li T, Li W, Dong L. Activation of STAT3 in human gastric cancer cells via interleukin (IL)-6-type cytokine signaling correlates with clinical implications. *Plos One.* 2013;8(10):e75788.

Weimann A, Braga M, Carli F, Higashiguchi T, Hübner M, Klek S, Laviano A, Ljungqvist O, Lobo DN, Martindale R, Waitzberg DL, Bischoff SC, Singer P. ESPEN guideline: Clinical nutrition in surgery. *Clin Nutr.* 2017;36(3):623–50.

Whitworth PW, Pak CC, Esgro J, Kleinerman ES, Fidler IJ. Macrophages and cancer. *Cancer Metastasis Reviews.* 1990;8:319-51.

Williamson BD, Carswell EA, Rubin BY, Prendergast JS, Old LJ. Human tumor necrosis factor produced by human B-cell lines: Synergistic cytotoxic interaction with human interferon. *Proc Natl Acad Sci.* 1983; 80: 5397-401.

Wong J, Smith LB, Magun EA, Engstrom T, Kelley-Howard K, Jandhyala DM, Thorpe CM, Magun BE, Wood LJ. Small molecule kinase inhibitors block the ZAK-dependent inflammatory effects of doxorubicin. *Cancer Biol Ther.* 2013;14(1):56-63.

Wood LJ, Weymann K. Inflammation and neural signaling: etiologic mechanisms of the cancer treatment-related symptom cluster. *Curr Opin Support Palliat Care.* 2013;7(1):54-9.

Woods KVA-SK, Clayman GL, Francis GM et al. Interleukin-1 regulates interleukin-6 secretion in human oral squamous cell carcinoma in vitro: possible influence of p53 but not human papillomavirus E6/E7. *J Cancer Res.* 1998;58(14):3142-9.

World Health Organisation (WHO).IARC. GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012 (Internet). Extraído 27 de março de 2014. Disponível em http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx

Wu CW, Wang SR, Chao MF, Wu TC, Lui WY, P'eng FK, Chi CW. Serum interleukin-6 levels reflect disease status of gastric cancer. *Am J Gastroenterol* 1996;91:1417-22.

Yin S, Lan C, Pei H, Zhu Z. Expression of interleukin 1 β in gastric cancer tissue and its effects on gastric cancer. *Onco Targets Ther.* 2015;9:31-5.

Yun J, Lee J, Park SH, Park JO, Park YS, Lim HY, Kang WK. A randomised phase II study of combination chemotherapy with epirubicin, cisplatin and capecitabine (ECX) or cisplatin and capecitabine (CX) in advanced gastric cancer. *Eur J Cancer.* 2010; 46(5):885-91.

Zabaglia LM, Sallas ML, Santos MPD, Orcini WA, Peruquetti RL, Constantino DH, Chen E, Smith MAC, Payão SM, Rasmussen LT. Expression of miRNA-146a, miRNA-155, IL-2, and TNF- α in inflammatory response to *Helicobacter pylori* infection associated with cancer progression. *Ann Hum Genet.* 2017;doi: 10.1111/ahg.12234.

Zander T, Hofmann A, Staratschek-Jox A, Classen S, Debey-Pascher S, Maisel D, Ansén S, Hahn M, Beyer M, Thomas RK, Gathof B, Mauch C, Delank KS, Engel-Riedel W, Wichmann HE, Stoelben E, Schultze JL, Wolf J. Blood-based gene expression signatures in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2011;17(10):3360-7.

Zekri ARN, Bahnassy AA, Abdel-Wahab SA, Khafagy MM, Loutfy SA, Radwan H, Shaarawy SM. Expression of pro- and anti-inflammatory cytokines in relation to apoptotic genes in Egyptian liver disease patients associated with HCV-genotype-4. *Journal of Gastroenterology and Hepatology.* 2009;24:416-28.

Zhang SS, Yang H, Luo KJ, Huang QY, Chen JY, Yang F, Cai XL, Xie X, Liu QW, Bella AE, Hu RG, Wen J, Hu Y, Fu JH. The impact of body mass index on complication and survival in resected oesophageal cancer: a clinical-based cohort and meta-analysis. *Br J Cancer.* 2013;109(11):2894–903.

Zhong HJ, Ying JE, Ma SL. Effect of Supportan on nutritional status and immune function of late-staged gastric cancer patients undergoing chemotherapy. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi.* 2006;9(5):405-8.

Zubelewicz-Szkodzinska B, Muc-Wierzgon M, Wierzgon J, Brodziak A. Dynamics of circadian fluctuations in serum concentration of cortisol and TNF-alpha soluble receptors in gastrointestinal cancer patients. *Oncol Rep.* 2001;8(1):207-12.

APÊNDICE A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DE
RIBEIRÃO PRETO DA USP -

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EXPRESSÃO GÊNICA DE CITOCINAS PRÓ E ANTICAQUÉTICAS EM PACIENTES COM NEOPLASIA DE ESTÔMAGO E DA CONFLUÊNCIA BILIOPANCREÁTICA

Pesquisador: Fernanda Aparecida Domenici

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 33923014.5.0000.5440

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.311.918

Apresentação do Projeto:

Trata-se de resposta de pendência da emenda ao projeto de pesquisa em carta datada de 24/10/2015 supracitado que encaminhava carta datada de 11/11/2015 solicitando a mudança do pesquisador principal para Profª Drª Selma Freire de Carvalho da Cunha e encaminhando o relatório parcial, nova versão do TCLE e inclusão do TCLE grupo controle. Também foi encaminhada carta datada de 08/10/2015 solicitando a mudança no título do estudo para "EXPRESSÃO GÊNICA DE CITOCINAS PRÓ E ANTICAQUÉTICAS EM PACIENTES COM NEOPLASIA DE ESTÔMAGO E DA CONFLUÊNCIA BILIOPANCREÁTICA", redução no número de procedimentos, inclusão de um grupo controle e alteração do pesquisador principal.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o efeito da quimioterapia nos marcadores inflamatórios e na expressão gênica sanguínea e do tecido adiposo em pacientes com neoplasia de estômago e de pâncreas antes e durante 12 semanas de quimioterapia.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: A aplicação dos questionários e as medidas antropométricas não são consideradas invasivas. Poderá ocorrer desconforto relacionado à coleta de sangue. No local de introdução da agulha, o paciente poderá apresentar leve dor ou hematoma. A fim de minimizar esse risco, a

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DE
RIBEIRÃO PRETO DA USP -

Continuação do Parecer: 1.311.918

coleta será realizada por profissionais capacitados, utilizando materiais descartáveis e com as medidas de segurança pertinentes, minimizando risco de infecções e ausência de transmissão de doença. Além desses cuidados, as análises do presente estudo serão feitas com a mesma amostra de sangue que a equipe da Oncologia solicitará para avaliação dos exames laboratoriais de rotina. Poderá haver sangramento mínimo no local onde a agulha de biópsia de tecido adiposo for inserida. Este sangramento tende a parar em poucos segundos, sem maiores consequências. A biópsia do tecido gorduroso pode também ocasionar dor local, que melhora espontaneamente na maioria das vezes. Pode haver necessidade de analgésicos comuns para alívio da dor. Benefícios: Os pacientes com neoplasias do trato digestivo apresentam evidente comprometimento do estado nutricional e risco para o desenvolvimento de caquexia, atribuídos, em parte, às alterações no sistema inflamatório decorrente do processo tumoral e do próprio tratamento antineoplásico. Os resultados obtidos no presente estudo poderão auxiliar na caracterização e na compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na caquexia durante o tratamento oncológico de outros pacientes com câncer do trato digestivo superior. Individualmente, os voluntários do estudo receberão orientações nutricionais individualizadas e em casos específicos e após discussão com a equipe médica responsável, poderão ser encaminhado para atendimento especializado com a equipe da Nutrologia.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo, prospectivo, longitudinal e randomizado, será conduzido no HCFMRP-USP envolvendo a Divisão de Nutrologia e Oncologia Clínica do Departamento de Clínica Médica, a Divisão de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Departamento de Cirurgia e Anatomia. O estudo também terá a participação do Grupo de Biologia Molecular da Célula do Instituto de Ciências Biomédicas I da Universidade de São Paulo. Todos os indivíduos

recrutados serão informados sobre os objetivos e procedimentos do estudo e assinarão o TCLE. As análises do presente estudo serão feitas em amostras de sangue e de tecido adiposo coletados em casuística de dois projetos paralelos: os voluntários serão randomizados e divididos em grupos conforme especificado na Figura 3: a) Grupo Estômago (n=15); b) Grupo Pâncreas (n=15) e c) Grupo Controle n=15).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram anexados os seguintes documentos da emenda ao projeto de pesquisa:

- Carta de resposta de emenda datada de 24/10/2015;
- Relatório parcial datado de 23/09/2015;

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DE
RIBEIRÃO PRETO DA USP -

Continuação do Parecer: 1.311.918

- Projeto versão 2 de 24/10/2015;
- TCLE grupo controle versão 1 de 08/10/2015;
- TCLE versão 2 de 08/10/2015.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O CEP analisou a emenda e aprovou o Projeto versão 2 de 24/10/2015; TCLE grupo controle versão 1 de 08/10/2015 e TCLE versão 2 de 08/10/2015. O CEP tomou ciência do Relatório parcial datado de 23/09/2015 e da mudança do pesquisador principal da pesquisa para a Profª Drª Selma Freire de Carvalho da Cunha.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_594437 E1.pdf	27/10/2015 10:51:59		Aceito
Outros	Modificacoes_realizadas.pdf	27/10/2015 10:11:42	Fernanda Aparecida Domenici	Aceito
Outros	Relatorio_Parcial.pdf	27/10/2015 10:10:30	Fernanda Aparecida Domenici	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_versao_2.pdf	27/10/2015 10:08:03	Fernanda Aparecida Domenici	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Grupo_Controlo_versao_1.pdf	08/10/2015 10:22:59	Fernanda Aparecida Domenici	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_versao_2.pdf	08/10/2015 10:21:58	Fernanda Aparecida Domenici	Aceito
Outros	Carta_ao_CEP.doc	08/10/2015 10:17:58	Fernanda Aparecida Domenici	Aceito
Outros	Carta_ao_CEP.pdf	20/09/2015 19:34:11	Fernanda Aparecida Domenici	Aceito
Outros	Carta para o CEP - Fernanda A Domenici 20.08.pdf	21/08/2014 10:52:58		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TCLE Fernanda A Domenici Versão 2.pdf	21/08/2014 10:52:25		Aceito

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DE
RIBEIRÃO PRETO DA USP -

Continuação do Parecer: 1.311.918

Justificativa de Ausência	TCLE Fernanda A Domenici Versão 2.pdf	21/08/2014 10:52:25		Aceito
Outros	Orçamento de Pesquisa Fernanda Aparecida Domenici.pdf	24/07/2014 10:20:13		Aceito
Folha de Rosto	Folha de Rosto Fernanda Aparecida Domenici.pdf	07/07/2014 15:30:37		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto Comitê de Ética 01.07.2014 PDF.pdf	01/07/2014 16:01:47		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE Fernanda A Domenici Versão 01.07.2014.pdf	01/07/2014 12:37:42		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Arquivo UPC assinado.pdf	06/06/2014 18:13:22		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRÃO PRETO, 06 de Novembro de 2015

Assinado por:
MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
(Coordenador)

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br

APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da Pesquisa: Expressão gênica de citocinas pró e antiaquéticas em pacientes com neoplasia de estômago e da confluência biliopancreática.

Pesquisadora responsável: Selma Freire de Carvalho da Cunha, docente do Departamento de Clínica Médica da FMRP-USP

Pesquisadores envolvidos:

Sofia Miranda de F. Ribeiro, sofia.ribeiro@usp.br Fone: (16) 99237 4627 ou (16) 3602 3369

Susana Merino, susanafmrp@usp.br Fone: (16) 98242 0863 ou (16) 3602 3369

Contato com o pesquisador envolvido:

Selma Freire C. Cunha e-mail: sfreire@fmrp.usp.br. Fone: (16) 3602 2466 ou (16) 3602 3369

Contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto: (16) 3602 2228

Convidamos o(a) Senhor(a) a participar de uma pesquisa que irá avaliar a produção de algumas substâncias do seu organismo que podem levar a perda de peso e a fraqueza durante a quimioterapia.

FINALIDADE DA PESQUISA

A perda de peso e a fraqueza são queixas comuns nas pessoas que tem a mesma doença que o(a) Senhor(a) apresenta, mas os motivos para estes sintomas não são bem esclarecidos. Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a produção de algumas substâncias no sangue e os fatores genéticos que parecem estar envolvidos na ocorrência de perda de peso e da fraqueza. Os dados obtidos neste estudo poderão ser úteis para propor estratégias que possam reduzir a intensidade das queixas de perda de peso e fraqueza nas pessoas com problemas de saúde semelhantes àqueles que o(a) Senhor(a) apresenta.

PROCEDIMENTOS DA PESQUISA

Caso concorde em participar, o(a) Senhor(a) será avaliado na ocasião da cirurgia para retirada do tumor em seu estômago ou pâncreas. Serão feitas perguntas sobre sua alimentação e serão feitas medidas de seu corpo para avaliar a quantidade de gordura e músculo, utilizando fita métrica, balança e um aparelho que possui eletrodos, semelhante ao eletrocardiograma. Um profissional treinado fará coleta de cerca de 4 colheres de sopa de sangue da veia do seu braço nos dias que antecedem a cirurgia. No dia da cirurgia, um cirurgião treinado irá coletar uma amostra de cerca de 0,5 cm³ de gordura em baixo da pele na região de sua barriga.

POSSÍVEIS DESCONFORTOS, RISCOS E BENEFÍCIOS DECORRENTES DA PESQUISA

A aplicação dos questionários e as medidas do seu corpo não trazem qualquer risco ou desconforto. Na coleta de sangue, o(a) Senhor(a) poderá ter algum desconforto quando

receber uma picada de agulha e poderá ter dor leve e/ou pequenas manchas roxas no local. O(a) Senhor(a) não terá nenhum desconforto na retirada da amostra de gordura da sua barriga, porque estará anestesiado para ser submetido à cirurgia. O desconforto que sentir após a cirurgia será decorrente dos procedimentos realizados para a retirada do tumor e não da retirada da pequena amostra de gordura da sua barriga. Conforme rotina da equipe da Gastrocirurgia, o(a) Senhor(a) receberá analgésicos comuns para alívio da dor.

O(a) Senhor(a) será identificado com um número, de forma a garantir o sigilo das informações e terá a garantia que seu nome não será divulgado durante todas as fases da pesquisa. As informações obtidas serão tornadas públicas em revistas científicas especializadas, independente dos resultados. A qualquer momento da pesquisa, o(a) Senhor(a) poderá tirar dúvidas sobre sua alimentação e nutrição com os pesquisadores. Caso sejam identificados alterações no seu estado nutricional, o(a) Senhor(a) receberá orientações individualizadas e em casos específicos e após discussão com a equipe médica responsável pelo seu atendimento, poderá ser encaminhado para atendimento especializado com a equipe da Nutrologia, no ambulatório ANED, sob os cuidados da Profa.Dra. Selma Freire, no corredor 9, ramal do balcão 5309.

DIREITOS DOS VOLUNTÁRIOS DA PESQUISA

Independente do resultado obtido no estudo, o(a) Senhor(a) terá acesso aos seus dados e receberá uma orientação na ocasião do encerramento da pesquisa. O(a) Senhor(a) poderá solicitar esclarecimentos sobre a pesquisa antes e durante o decorrer do estudo, tanto pessoalmente quanto por contato telefônico com os pesquisadores, anotados acima. O(a) Senhor(a) tem a liberdade de recusar a participar desta pesquisa ou retirar seu consentimento em qualquer momento, sem que isso modifique seu atendimento neste hospital. Pela sua autorização, o(a) Sr(a) não receberá qualquer valor em dinheiro. Será assegurado seu direito de solicitar indenização nos termos da lei vigente, caso o(a) Sr(a) julgue que sua participação neste estudo o prejudicou de alguma forma.

Caso o(a) Sr(a) concorde em participar desta pesquisa, nós solicitamos que coloque a data, seu nome e assine as duas vias deste documento. O(a) Senhor(a) e o pesquisador que apresentar este documento deverão rubricar a página inicial. Uma via ficará arquivada com os pesquisadores e o (a) Senhor(a) receberá a outra via deste documento.

Ribeirão Preto,//

Nome do voluntário

Assinatura do voluntário

Nome do pesquisador

Assinatura do pesquisador

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
GRUPO CONTROLE

Título da Pesquisa: Expressão gênica de citocinas pró e antiaquéticas em pacientes com neoplasia de estômago e da confluência biliopancreática.

Pesquisadora responsável: Selma Freire de Carvalho da Cunha, docente do Departamento de Clínica Médica da FMRP-USP

Pesquisadores envolvidos:

Sofia Miranda de F. Ribeiro, sofia.ribeiro@usp.br Fone: (16) 99237 4627 ou (16) 3602 3369
Susana Merino, susanafmrp@usp.br Fone: (16) 98242 0863 ou (16) 3602 3369

Contato com o pesquisador envolvido:

Selma Freire C. Cunha e-mail: sfreire@fmrp.usp.br. Fone: (16) 3602 2466 ou (16) 3602 3369

Contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto: (16) 3602 2228

Convidamos o(a) Senhor(a) a participar de uma pesquisa que irá comparar a produção de algumas substâncias do seu organismo com as de pacientes com neoplasia gástrica e confluência bilio-pancreática.

FINALIDADE DA PESQUISA

Aos comparar os dados obtidos de sua avaliação com aqueles coletados em pacientes com câncer, esperamos esclarecer a causa da perda de peso e da fraqueza nesses casos. Essa informação poderá ajudar pesquisadores a propor estratégias que possam reduzir a intensidade da fraqueza e da perda de peso nos pacientes com câncer

PROCEDIMENTOS DA PESQUISA

O(a) Senhor(a) será submetido à cirurgia eletiva para correção de hérnia incisional, inguinal ou umbilical, conforme orientação da equipe médica responsável pelo seu tratamento. Caso concorde em participar, o(a) Senhor(a) será avaliado antes de se submeter à cirurgia eletiva para correção de sua hérnia. Serão feitas perguntas sobre sua alimentação e medidas de seu corpo para avaliar a quantidade de gordura e músculo, utilizando fita métrica, balança e um aparelho que possui eletrodos, semelhante ao eletrocardiograma. Um profissional treinado fará coleta de cerca de 4 colheres de sopa de sangue da veia do seu braço antes da cirurgia. No momento de sua cirurgia, um cirurgião treinado irá coletar uma amostra de cerca de 0,5 cm³ de gordura em baixo da pele na região de sua barriga

POSSÍVEIS DESCONFORTOS, RISCOS E BENEFÍCIOS DECORRENTES DA PESQUISA

A aplicação dos questionários e as medidas do seu corpo não trazem qualquer risco ou desconforto. Na coleta de sangue, o(a) Senhor(a) poderá ter algum desconforto quando receber uma picada de agulha e poderá ter dor leve e/ou pequenas manchas roxas no local. Para evitar

tais riscos, nossas análises serão feitas com a mesma amostra de sangue que a equipe da Gastrocirurgia solicitou para a avaliação dos exames laboratoriais de rotina. Dessa forma, o(a) Senhor(a) não receberá outras picadas para coleta de sangue. O(a) Senhor(a) estará anestesiado no momento em que o cirurgião coletar a amostra de gordura de sua barriga. O(a) Senhor(a) não terá nenhum desconforto devido à retirada da gordura, mas poderá ter algum desconforto inerente da própria cirurgia de correção da hérnia.

O(a) Senhor(a) será identificado com um número, de forma a garantir o sigilo das informações e terá a garantia que seu nome não será divulgado durante todas as fases da pesquisa. As informações obtidas serão tornadas públicas em revistas científicas especializadas, independente dos resultados. A qualquer momento da pesquisa, o(a) Senhor(a) poderá tirar dúvidas sobre sua alimentação e nutrição com os pesquisadores.

DIREITOS DOS VOLUNTÁRIOS DA PESQUISA

Independente do resultado obtido no estudo, o(a) Senhor(a) terá acesso aos seus dados. O(a) Senhor(a) poderá solicitar esclarecimentos sobre a pesquisa tanto pessoalmente quanto por contato telefônico, anotados acima. O(a) Senhor(a) tem a liberdade de recusar a participar desta pesquisa ou retirar seu consentimento em qualquer momento, sem que isso modifique seu atendimento neste hospital. Pela sua autorização, o(a) Senhor(a) não receberá qualquer valor em dinheiro. Será assegurado seu direito de solicitar indenização nos termos da lei vigente, caso o(a) Senhor(a) julgue que sua participação neste estudo o prejudicou de alguma forma.

Caso o(a) Senhor(a) concorde em participar desta pesquisa, nós solicitamos que coloque a data, seu nome e assine as duas vias deste documento. O(a) Senhor(a) e o pesquisador que apresentar este documento deverão rubricar a página inicial. Uma via ficará arquivada com os pesquisadores e o (a) Senhor(a) receberá a outra via deste documento.

Ribeirão Preto,//

Nome do voluntário

Assinatura do voluntário

Nome do pesquisador

Assinatura do pesquisador

ANEXO A – Valores de referência da ingestão nutricional diária energética, macro e micronutrientes

Nutrientes	Recomendação Diária
Energia (kcal/kg)	30-35
Proteínas (g/kg)	1,0-1,5
Vitamina B₁₂ (µg)	2,4
Vitamina C (mg)	M: 90; F: 75
Vitamina E (mg)	15
Ácido fólico (µg)	400
Ferro (mg)	M: 8; F: 18
Zinco (mg)	M: 11; F: 8
Cobre (mg)	0,9

F: feminino; M: masculino

Fonte: DRI, 2011; Projeto Diretrizes, 2011

ANEXO B – Faixa de normalidade da composição corporal

Nutrientes	Faixa de normalidade
IMC (kg/m ²)	Adultos: 18,5-25; Idosos: 22-27
IMLG (kg/m ²)	M: >17; F: >15

F: feminino; M: masculino; IMC: índice de massa corporal; PCT: prega cutânea tricipital; CMB: circunferência muscular do braço; IMLG: índice de massa livre de gordura
 Fonte: Schultz et al, 2002; WHO, 2012.

ANEXO C – Valores de normalidade de exames bioquímicos

Exame laboratorial bioquímico	Valores de referência
Glicose (mg/dL)	70-100
Hemoglobina (g/dL)	M: 13,5-17,5; F: 12,0-15,5
VMC (fL)	M: 81-95; F: 82-98
Leucócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	3,5-10,5
Linfócitos totais ($10^3/\mu\text{L}$)	0,9-2,9
Ureia (mg/dL)	10-50
Creatinina (mg/dL)	0,7-1,5
AST (U/L)	M: <38; F: <41
ALT (U/L)	M: <41; F: 31
Gama GT (U/L)	11-50
Proteínas totais (g/dL)	6,0-8,5
Albumina sérica (g/dL)	3,5-4,8
Transferrina (ng/dL)	170-340
Ferritina (ng/dL)	M: 28-397; F: 6-159
Proteína C reativa (mg/dL)	<0,5
Ferro ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	65-175
Zinco ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	50-120
Cobre ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	70-140
Ácido fólico (ng/dL)	3-17
Vitamina B₁₂ (pg/mL)	271-813
Vitamina A ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	1,05-2,8
Vitamina C ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	<0,3
Vitamina E ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	23-27
Colesterol total (mg/dL)	<200
Triglicérides (mg/dL)	<150

F: feminino; M: masculino; VCM: volume corpuscular médio; ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; Gama GT: gama-glutamil transferase

Fonte: Manual de exames laboratoriais do HC/FMRP-USP